

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE ZOOLOGIE ET STATION DE ZOOLOGIE
EXPÉRIMENTALE DE L'UNIVERSITÉ DE GENÈVE.

Directeur : M. le professeur E. GUYÉNOT.

Action de l'ultra-violet sur le pôle germinal dans l'œuf de *Drosophila melanogaster* (Castration et mutabilité)

par

Rodolphe GEIGY

Avec les planches 9 à 14 et 21 figures dans le texte.

SOMMAIRE.

	Pages
AVANT-PROPOS	189

PREMIÈRE PARTIE.

CHAPITRE I: <i>Développement embryonnaire de la Drosophile; formation et destinée des cellules polaires</i>	191
CHAPITRE II: <i>Morphologie des appareils génitaux mâle et femelle</i> .	199
CHAPITRE III: <i>Structure des gonades larvaires, nymphales et imaginaires</i>	202

DEUXIÈME PARTIE.

CASTRATION EXPÉRIMENTALE.

CHAPITRE IV: <i>Matériel et technique</i>	216
CHAPITRE V: <i>Effets destructeurs des rayons ultra-violets sur les œufs exposés</i>	225
CHAPITRE VI: <i>Retentissement de la castration sur la morphologie des appareils génitaux</i>	235
CHAPITRE VII: <i>Structure histologique des gonades stériles</i> . . .	242

CHAPITRE VIII: *Discussion des résultats:*

1. La différenciation autonome du mésoderme en l'absence du germe	248
2. La valeur prospective des cellules polaires	250
3. Les caractères sexuels secondaires morphologiques et physiologiques des castrats	251
4. Stérilité génétique et stérilité expérimentale	253

TROISIÈME PARTIE.

RAYONS ULTRA-VIOLETS ET MUTABILITÉ.

HISTORIQUE	256
CHAPITRE IX: <i>Pouvoir pénétrant de l'ultra-violet et son application en génétique</i>	259
CHAPITRE X: <i>Mutabilité dans les lignées irradiées et chez les témoins</i>	265
CHAPITRE XI: <i>Description des mutations obtenues</i>	274
CONCLUSIONS	280
AUTEURS CITÉS	282
EXPLICATION DES PLANCHES	286
ABRÉVIATIONS POUR LES LÉGENDES DES FIGURES	288

AVANT-PROPOS

Mon maître, M. le professeur Emile GUYÉNOT, a publié en 1914 les résultats préliminaires d'expériences concernant l'action des rayons ultra-violets sur *Drosophila melanogaster*. L'apparition de formes mélaniques dans la descendance des mouches exposées le conduisit à supposer que les radiations avaient pu entraîner des modifications du patrimoine héréditaire. Malheureusement, les circonstances ne lui permirent pas de poursuivre ses recherches et d'arriver à des conclusions précises.

C'est sur son conseil que je me suis alors attaché à reprendre cette étude dès 1926, en exposant aux rayons ultra-violets des *Drosophila melanogaster* à l'état de larves jeunes, moyennes et avancées puis à l'état de pupes de tout âge et enfin au stade de mouches adultes. Ces individus exposés ont alors été croisés entre eux ou avec des témoins, afin d'étudier leur descendance, mais il ne m'a jamais été possible d'obtenir le mélanisme décrit par GUYÉNOT, ni de constater une modification quelconque du germen, attribuable aux rayons ultra-violets et qui se serait manifestée par des anomalies structurales ou des aberrations génétiques dans la descendance.

C'est alors que je me suis attaché, en 1927, à faire agir les irradiations exclusivement sur les œufs, dans le but d'atteindre plus directement les éléments germinaux. Il y a un stade qui paraissait devoir se prêter particulièrement bien à cette tentative, celui où les cellules dites polaires, qui ne sont autre chose que les éléments initiaux de la lignée germinale, apparaissent au pôle postérieur pendant et déjà un peu avant la formation du blastoderme. C'est ce petit amas de cellules polaires que j'ai cherché à soumettre électivement aux rayons ultra-violets pour étudier dans quelle mesure elles pouvaient être influencées. Théoriquement, on pouvait s'attendre à deux résultats différents :

1° Des doses assez fortes pour détruire complètement les éléments germinaux entraîneraient une castration expérimentale précoce dont on pourrait reconnaître les effets au point de vue de la détermination embryonnaire des ébauches, ainsi qu'en ce qui concerne

la sexualité et les caractères sexuels secondaires chez les Diptères.

2° Des doses plus faibles pourraient, sans tuer les cellules ni les empêcher de former une glande génitale, les modifier, par exemple en déclenchant des mutations.

Mes premiers essais, dont les résultats ont été publiés en 1928, portaient sur *Musca domestica*, dont les œufs paraissaient plus aisés à manipuler en raison de leurs dimensions relativement grandes. Encouragé par les résultats obtenus, j'ai poursuivi mes recherches en m'adressant de nouveau à *Drosophila melanogaster*, organisme particulièrement précieux en raison de ses facilités d'élevage, de sa fécondité et de la connaissance si approfondie que nous avons de son patrimoine héréditaire et de ses nombreuses mutations.

Le présent travail relate avant tout les résultats obtenus au moyen de doses assez fortes pour entraîner la castration. Je signalerai cependant les anomalies génétiques que j'ai observées mais sans prétendre attribuer à cette dernière étude, faite incidemment, aucun caractère définitif.

* * *

Je ne voudrais pas terminer cet avant-propos sans rappeler que la réalisation de ce travail a été rendue possible dans une large mesure par mon très estimé maître, M. le Professeur GUYÉNOT, non seulement parce qu'il m'a initié à ses excellentes et ingénieuses méthodes d'élevage de la *Drosophile* qu'il a pratiquées lui-même pendant de nombreuses années, mais aussi et surtout, parce que sa large culture scientifique, et ses connaissances profondes des problèmes biologiques modernes, font de lui un véritable maître comme on en trouve rarement. Il faut avoir connu sa compétence dans les domaines les plus variés, l'impulsion qu'il sait donner à la recherche, pour comprendre ce que vaut le témoignage de ma sincère reconnaissance et de la grande admiration que je me permets de lui exprimer.

Mes meilleurs remerciements vont aussi à mon ami M. le Docteur André NAVILLE, chef des travaux au laboratoire de zoologie de Genève, dont les conseils multiples dans l'élaboration des techniques histologiques et dans la construction des appareils m'ont toujours été extrêmement précieux.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I. — DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DE LA
DROSOPHILE, FORMATION ET DESTINÉE DES CELLULES POLAIRES.

De nombreuses observations faites sur coupes m'ont montré que l'œuf de *Drosophila* se développe presque exactement suivant le schéma classique des Muscides, tel qu'il a été établi par les travaux fondamentaux de WEISMANN (1863), BOBRETZKY (1878), KOWALEVSKY (1886), GRABER (1889), HEYMONS (1893), ESCHERICH (1900) et NOACK (1901).

Il me suffira donc de décrire les principaux caractères de l'œuf ainsi que de rappeler ses différents stades évolutifs, sans entrer dans les détails de l'organogenèse qui n'ont que peu d'importance pour ce travail.

L'œuf appartient au type centrolécithe à segmentation superficielle. Il a la forme d'un cylindre allongé, arrondi aux deux pôles, et possède dès le début une symétrie bilatérale. Ainsi on distingue une face ventrale convexe et une face dorsale aplatie ou légèrement déprimée. Le pôle antérieur, plus pointu que le pôle postérieur, est caractérisé par deux cornes entre lesquelles se trouve le micropyle, c'est-à-dire une perforation des enveloppes de l'œuf permettant la pénétration des spermatozoïdes. Il y a une enveloppe externe ou *chorion*, résistante, imperméable et opaque qui porte en avant les deux cornes, prolongements filiformes légèrement renflés aux extrémités, ainsi qu'un mamelon pointu portant le micropyle. La surface brillante du chorion montre un dessin polygonal qui n'est autre que l'empreinte des cellules folliculaires (figures 1 et 2). Sous le chorion on rencontre une enveloppe très fine et transparente, la *membrane vitelline*. Celle-ci enveloppe l'œuf proprement dit.

La ponte a normalement lieu peu après la fécondation; à ce moment l'union des pronuclei mâle et femelle est généralement accomplie et souvent on note déjà la présence de 4 noyaux de segmentation, situés dans le premier tiers antérieur de l'œuf. Ce

dernier est constitué par un cytoplasme très riche en sphérules vitellines grosses et petites qui sont un peu plus denses au centre que vers la périphérie. Il existe ainsi une mince couche protoplasmique corticale, légèrement plus épaisse aux deux pôles, qui ne contient pas de granules deutoplasmiques et qu'on appelle le

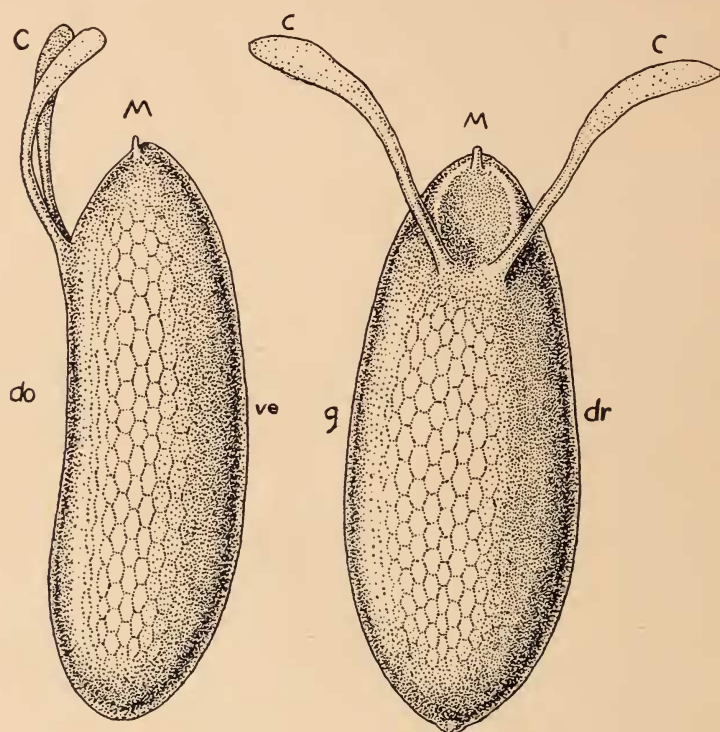


FIG. 1 et 2.

Oeuf de *Drosophila melanogaster* en vue latérale (1).
et en vue dorsale (2).

*blastème germinatif*¹ (figure 3). Par des divisions synchrones incessantes, le nombre des noyaux augmente rapidement; ils quittent pendant ce temps le centre et se dirigent vers la périphérie où ils s'entourent chacun d'une petite zone protoplasmique. A peu près au moment où leur nombre s'élève à 256, quelques noyaux gagnent la calotte protoplasmique du pôle postérieur où ils deviennent les

¹ « Keimhautblastem » de WEISMANN.

centres de formation des cellules polaires, sur lesquelles je reviendrai plus en détail. Peu après, les autres noyaux occupent toute l'aire du blastème germinatif; autour de chacun d'eux s'individualisent et se délimitent bientôt des cellules cylindriques dont l'ensemble, disposé sur une seule couche, constitue le *blastoderme*. La figure 4 nous montre un œuf à ce stade; on remarque que la masse vitello-

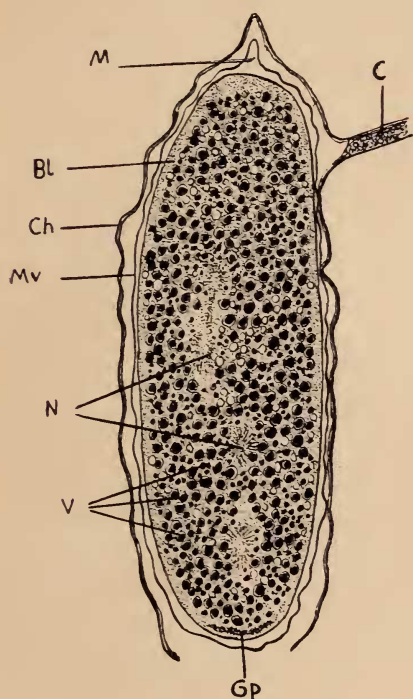


FIG. 3.

Coupe longitudinale d'un œuf au stade « blastème germinatif ».

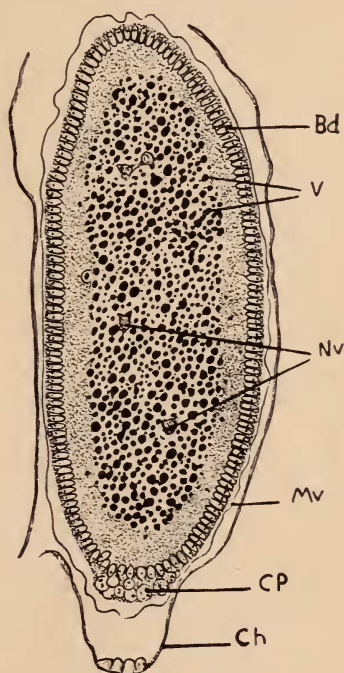


FIG. 4.

Coupe longitudinale d'un œuf au stade « blastoderme ».

plasmatique centrale contient quelques noyaux vitellins ou vitellophages, provenant de noyaux de segmentation n'ayant pas participé à la formation du blastoderme et dont le rôle est encore discuté. Ils paraissent ne prendre aucune part à la formation de l'embryon et serviraient tout au plus à faciliter la résorption du vitellus.

Examinons maintenant plus en détail la *formation des cellules polaires*. NOACK (1901) l'a décrite clairement chez *Calliphora* et *Lucilia*; les figures remarquables qu'il a publiées permettent de

reconnaitre les très grandes analogies qui existent entre le développement de la *Drosophile* et celui des Muscides. Ses descriptions s'accordent d'ailleurs sur bien des points avec celles qu'a données, dans un travail beaucoup plus récent, HUETTNER (1923), qui a minutieusement étudié le mode de formation des initiales sexuelles chez *Drosophila melanogaster*. Mes propres observations ne peuvent que confirmer les données de HUETTNER que je prendrai comme base de description. Au stade blastème l'ooplasme du pôle postérieur contient un grand nombre de *granules* très fins (fig. 3), qui constituent dans cette zone une aire plus ou moins étendue selon les œufs. Lorsque, peu avant le stade blastoderme, les noyaux arrivent dans la région postérieure de l'œuf, on constate que ceux qui pénètrent dans la zone des granules entrent en division, puis deviennent le centre de cellules sphériques qui ne sont autres que les *cellules germinales primordiales*. Ces cellules manifestent tout de suite une tendance à l'isolement, en formant d'abord des sortes de protubérances ou poches protoplasmiques qui ne tardent pas à se séparer du blastème par étranglement basal. Cette élimination polaire des éléments sexuels se fait progressivement, commence par ceux du centre et s'étend ensuite aux cellules latérales qui sont souvent directement au contact des cellules blastodermiques en formation. Au fur et à mesure, ces éléments germinaux viennent donc se loger entre la périphérie du pôle postérieur de l'œuf et la membrane vitelline pour y constituer l'amas caractéristique des cellules polaires (voir aussi Pl. 10e). Il est à remarquer que chacune de celles-ci renferme dans son protoplasme une quantité variable de granules polaires, ce qui n'est pas le cas pour les cellules du voisinage dont les noyaux étaient situés en dehors de l'aire granuleuse et qui deviennent de simples cellules blastodermiques. Peut-être y a-t-il une corrélation entre la constitution granuleuse du cytoplasme polaire et la détermination des initiales sexuelles ? HEGNER (1908/09/11) qui a fait la même observation chez les Coléoptères, suppose que les granules représentent effectivement des déterminants des cellules germinales; comme nous le verrons plus tard, il a tenté une vérification expérimentale de son hypothèse, sans cependant arriver à des conclusions certaines (p. 247). En ce qui concerne la constitution de ces granules chez la *Drosophile*, HUETTNER (1923) aboutit à l'idée qu'ils ne représentent ni des grains de vitellus ni des mitochondries. Il a en outre fait l'observation.

que la quantité initiale des granules est juste suffisante pour pourvoir les premières cellules polaires et qu'après épuisement de nouveaux granules sont reformés par l'ooplasme. Plus tard, au cours de la vie embryonnaire, ils disparaissent pour réapparaître finalement chez la femelle au pôle postérieur des ovocytes peu avant la fécondation. Cet épuisement progressif des granules, suivi d'une nouvelle formation, n'engage pas beaucoup à localiser dans un matériel aussi instable une action déterminante. On a peut-être souvent attribué aux granules une importance exagérée, alors qu'ils pourraient ne représenter qu'un produit accessoire du métabolisme de l'ovocyte. Quant aux noyaux de segmentation, ils ont primitivement tous une ressemblance structurale et morphologique complète. Le nombre de ceux qui arrivent dans l'aire granuleuse pour participer à la formation des cellules polaires est variable (5 à 11 d'après HUETTNER). L'auteur a observé, en outre, que des noyaux, situés sur la limite de la zone granuleuse, donnent, en se divisant, à un pôle du fuseau une cellule polaire, à l'autre (celui qui est en dehors de la granula) une cellule blastodermique. Il en résulte qu'on ne peut guère admettre qu'il y ait dès le début des noyaux « germinaux » et des noyaux « blastodermiques », déterminant plus tard l'une ou l'autre catégorie de cellules. La qualité des cellules germinales ne dépendant ni des noyaux, ni — ce qui est très probable — des granules polaires, on ne peut attribuer leur détermination en tant qu'initiales sexuelles qu'à la constitution spécifique du cytoplasme du pôle postérieur de l'œuf. C'est ce qu'admet HUETTNER: les noyaux que le hasard fait pénétrer dans ce territoire entraîneraient, comme dans le reste du blastème, la formation de cellules individualisées, mais la spécificité de ces cellules serait uniquement due à la constitution du cytoplasme. Nous verrons plus tard que ces vues sont conformes aux idées actuelles sur le mécanisme de la détermination.

Lorsque la dernière cellule polaire a rompu ses connexions avec l'ooplasme et que le « territoire germinal » se trouve ainsi entièrement éliminé et isolé, la couche blastodermique se complète dans la région polaire sous-jacente et entoure alors complètement l'œuf (Pl. 10 e). Il n'y a pas d'indications précises, dans les travaux publiés, au sujet du nombre définitif des cellules polaires, chose d'ailleurs assez difficile à déterminer et d'importance secon-

daire¹. Par contre, il semble bien certain que les cellules sexuelles, une fois isolées et accolées à la surface du pôle, continuent pendant quelque temps à se diviser tout en diminuant de taille. Puis elles ne se transforment plus, gardent longtemps leur forme arrondie et leur structure granuleuse typiques.

Une fois le blastoderme constitué, le développement se poursuit et aboutit, par des phénomènes de plissement et d'invagination, à la constitution des trois feuilletts embryonnaires classiques: ecto- méso- et endoderme. Ici je suivrai principalement les descriptions de NOACK (1901) et d'ESCHERICH (1900/1901) concernant *Lucilia* et *Calliphora*, vérifiées et confirmées en grande partie par mes propres observations sur *Drosophila*.

La première indication de la différenciation des feuilletts est un épaissement de la couche blastodermique sur la face ventrale et aux deux pôles, qui provient du fait que les cellules de ces régions s'allongent par suite d'une absorption active de vitellus. On commence alors à distinguer la *bandelette germinative*. Bientôt une partie de celle-ci s'enfonce le long d'une ligne médio-ventrale, à l'intérieur du vitellus. Il se forme de ce fait une gouttière qui, à mesure qu'elle gagne en profondeur, se ferme sur les bords et devient plus tard complètement indépendante (phénomène qui rappelle un peu la formation de la gouttière neurale des Vertébrés). Le blastoderme se trouve ainsi doublé ventralement d'une longue masse cellulaire qui s'étend d'avant en arrière et qui n'est autre que l'ébauche du *mésoderme*, que certains auteurs ont nommé le tube mésodermique. La bandelette germinative gagne considérablement en épaisseur par cette nouvelle formation; le vitellus, résorbé par les cellules, diminue de masse. Dans la région des deux pôles de l'œuf, la gouttière mésodermique se bifurque dès le début en deux replis latéraux, entre lesquels vient se loger une autre agglomération cellulaire, également issue du blastoderme par prolifération: l'ébauche *endodermique* bipolaire. Il en résulte que l'endoderme apparaît simultanément en deux endroits différents aux extrémités de la masse mésodermique. Le blastoderme en son ensemble peut dès lors être considéré comme *ectoderme*.

Pendant que ce processus s'achève, la bandelette germinative s'allonge, ce qui se traduit par le fait que sa partie postérieure,

¹ WEISMANN indique 32 pour *Calliphora*, GRABER 25-35.

contournant le vitellus, empiète sur environ $\frac{1}{3}$ de la face dorsale, où elle ne tarde pas à s'enfoncer dans le vitellus sous forme d'une invagination de plus en plus profonde. L'amas des cellules polaires, situé, comme on sait, au pôle postérieur, à peu près à l'extrémité de la bandelette germinative primitive, se trouve entraîné passivement par le mouvement de cette dernière et vient se loger au fond de son invagination. Celle-ci se fait au niveau de l'ébauche endodermique postérieure (qui a aussi suivi le mouvement d'extension de l'embryon) et la refoule en quelque sorte devant elle à l'intérieur du vitellus. L'ectoderme et l'endoderme restent dans cette région en contact intime et définitif.

Il arrive alors que le fond du blastoderme invaginé, sur lequel reposent les cellules polaires, présente des espaces intercellulaires qui forment autant de passages par lesquels les éléments sexuels traversent cette couche pour pénétrer à l'intérieur de l'embryon. Ils rencontrent d'abord l'ébauche endodermique postérieure.

Cette invagination caudale de l'embryon qui est, chez la *Drosophile* et les Muscides, un stade très caractéristique n'est autre que le début d'une *formation amniotique*. Seulement, l'amnios, au lieu de recouvrir entièrement l'embryon, comme cela arrive chez beaucoup d'autres insectes, se borne ici à former un repli caudal peu important. Cette partie postérieure de l'embryon, y compris son invagination, se déplace par la suite dorsalement encore plus en avant, jusqu'à venir toucher presque la région céphalique au pôle antérieur; l'embryon présente à ce moment son maximum d'extension à la surface du vitellus. Puis survient une contraction importante de la bandelette germinative; l'invagination est de ce fait ramenée en arrière et prend sa place définitive au pôle postérieur où elle constitue alors le *proctodæum* et les tubes de Malpighi. A l'opposé, un peu ventralement, mais près du pôle antérieur a apparu une autre invagination ectodermique, le *stomodæum*, qui entre en contact avec l'ébauche endodermique antérieure qui a déjà pris de l'extension.

Tous les phénomènes que je viens de décrire, à partir de la première indication de la bandelette germinative, sont accompagnés par l'apparition, sur l'ectoderme, de toute une série de plis transversaux ou obliques qui sillonnent la surface de l'œuf, soit sur tout son pourtour, soit seulement ventralement et latéralement. Ces plis délimitent plus ou moins superficiellement les régions anté-

rière, médiane et postérieure et ont été décrits par plusieurs auteurs (WEISMANN, ESCHERICH, NOACK) et dotés de noms. Mais, comme ils sont destinés à disparaître et qu'ils n'ont rien à faire avec la véritable métamérisation de l'embryon en 12 segments, qui commence seulement à s'établir au cours de la contraction de la bandelette germinative, je ne fais que les mentionner.

Les ébauches endodermiques antérieure et postérieure, jusqu'alors sous forme de deux amas cellulaires compacts, prolifèrent par la suite et vont, en englobant le vitellus central, à la rencontre l'une de l'autre, constituant ainsi toute la portion moyenne de l'intestin. L'ectoderme donnera naissance ventralement à la chaîne ganglionnaire, dorsalement aux deux grands troncs trachéens. Quant au mésoderme, il a surtout pris de l'extension latéralement et remplit l'espace entre le futur tractus intestinal et la paroi ectodermique. Prenant part à la métamérisation générale, il se segmente en sacs coelomiques, dont les principaux dérivés sont la musculature, le tissu adipeux, le mésenchyme et le système circulatoire.

Cette description rapide et très schématique, qui ne peut pas donner une idée de la complexité réelle de l'embryogenèse des Diptères, suffit à nos besoins. J'ajouterai seulement quelques mots sur le sort ultérieur des cellules sexuelles.

Nous avons vu comment celles-ci sont venues se loger, par migration active, dans l'ébauche endodermique postérieure, après avoir traversé le fond de l'invagination ectodermique. Mais, l'endoderme étant appelé à fournir l'intestin moyen, il est peu probable que les éléments en question se fixent définitivement dans cette région, comme le prétend par exemple NOACK. Jusqu'à présent aucun auteur n'a pu découvrir, chez les Muscides, ce que deviennent ultérieurement les initiales sexuelles et je n'ai pas cherché pour l'instant à compléter nos connaissances sur ce point. Nous savons seulement que la jeune larve porte au niveau du 9^{me} segment, enfoncées dans la masse du tissu adipeux, deux petites gonades paires, renfermant les éléments germinaux proprement dit, accompagnés d'autres cellules dont mes recherches ont permis d'établir la signification. On peut en déduire que les cellules polaires, après avoir pénétré à l'intérieur de l'embryon, ont dû se séparer en deux groupes droit et gauche, tout en s'associant à des cellules somatiques. Il est utile de se rappeler ici que, si les données sont encore

incomplètes chez les Muscides et la Drosophile, la formation de l'ébauche génitale embryonnaire a été très bien étudiée chez beaucoup d'autres insectes. C'est le cas pour *Isotoma* (PHILIP-SCHENKO 1912), *Phyllodromia* (HEYMONS 1892), *Pyrrhocoris apterus* (SEIDEL 1924), *Forficula* (HEYMONS 1895), *Chironomus* (HASPER 1911), *Miastor* (KAHLE 1908), *Calligrapha*, *Leptinotarsa* (HEGNER 1909), *Donacia* (HIRSCHLER 1909), *Vespa* (STRINDBERG 1914), etc... D'une façon parfaitement constante, tous ces auteurs ont pu établir que les cellules somatiques qui participent à la constitution de la gonade sont d'origine *mésodermique*. Il me semblerait illogique, vu ces documents nombreux, provenant des groupes les plus divers et en partie voisins de la Drosophile, de ne pas admettre qu'il en est de même chez cette dernière. L'endoderme postérieur et le mésoderme étant à proximité, sinon au contact l'un de l'autre, on peut facilement concevoir que les cellules polaires continuent leur migration et passent dans le *mésoderme* où elles trouvent à droite et à gauche leur emplacement définitif.

Ce premier chapitre avait principalement pour but de fixer les notions embryologiques qui sont nécessaires pour la compréhension de la partie expérimentale de ce travail. Voici donc les quelques points qu'il faut retenir :

- a) Les cellules polaires se forment à un stade très jeune, peu avant le blastoderme.
- b) Elles ne séjournent pas longtemps au pôle postérieur, mais sont bientôt entraînées au fond de l'invagination amniotique dorsale.
- c) Occupant jusqu'alors une position extérieure par rapport à l'embryon en formation, elles ne tardent pas à pénétrer à son intérieur en traversant activement l'ectoderme.
- d) Elles vont alors constituer au niveau du 9^{me} segment les gonades larvaires droite et gauche en s'unissant avec des éléments mésodermiques.

CHAPITRE II. — MORPHOLOGIE DES APPAREILS GÉNITAUX MALE ET FEMELLE.

La connaissance exacte de l'appareil génital, tel qu'il se présente normalement chez la Drosophile adulte, permettra de mieux

comprendre les modifications qui ont été observées chez les mouches issues d'œufs irradiés. On trouvera dans un travail de NONIDÉZ (1920) une description détaillée de la morphologie des appareils mâle et femelle de *Drosophila melanogaster*, ainsi que des renseignements intéressants se rapportant à l'éjaculation du sperme et à la fécondation.

A. Appareil génital mâle.

(Voir planche 11, fig. a.)

Les *testicules* sont représentés par deux longs tubes jaunâtres droit et gauche, enroulés en spirale et légèrement plus épais aux extrémités libres, terminées en cul-de-sac; par leur partie inférieure, ils débouchent dans les *spermiductes*, canalicules également jaunâtres, dont la première portion s'évase en une ampoule dans laquelle s'accumule le sperme. Avant de s'ouvrir dans le *canal déférent impair*, les spermiductes droit et gauche se réunissent en un seul canal très court et fin; ce détail a échappé à NONIDÉZ. La partie antérieure du canal déférent est fortement élargie, elle reçoit presque à son sommet les spermiductes réunis, tandis qu'un peu en arrière débouche une paire de *glandes accessoires* (paragonia, NONIDÉZ) qui se présentent sous forme de deux sacs allongés assez volumineux. Leurs cellules pariétales secrètent dans un large lumen un fluide épais qui se mélange, dans le canal déférent, aux spermatozoïdes et constitue le sperme. A l'autopsie, les glandes accessoires montrent toujours d'actives contractions. Le canal déférent va en s'aminçissant et finit par devenir un grêle conduit qui aboutit dans la *pompe éjaculatrice*. La fonction et le mécanisme de cet organe musculéux ont été minutieusement décrits par NONIDÉZ; son rôle est d'aspirer, au moment de l'accouplement, la masse spermatique du canal déférent et de l'évacuer sous pression à travers le *canal éjaculateur* dans l'utérus de la femelle, les orifices génitaux des deux individus étant alors intimement appliqués l'un contre l'autre.

B. Appareil génital femelle.

(Voir planche 11, fig. d.)

Chaque *ovaire* se compose d'un certain nombre de *tubes ovigères*, dans lesquels mûrissent les œufs. La zone de prolifération germinale étant située au sommet de chaque tube, on rencontre, à mesure qu'on descend vers l'extrémité inférieure, des œufs de plus en plus volu-

mineux disposés en chapelet. Par leur épaisseur les œufs mûrs dilatent les tubes ovariens de sorte que, dans son ensemble, l'ovaire a la forme d'un ovoïde, étiré en pointe au sommet. Ce faisceau de tubes ovariques est inclus dans un tissu mésenchymateux qui forme à l'extérieur l'enveloppe ovarienne. Celle-ci se continue basalement sur les deux courts *oviductes* qui relient les ovaires à un canal commun, l'*oviducte impair*; la paroi de ces conduits est élastique et musculeuse, se dilate par conséquent facilement au passage des œufs. A l'autopsie, j'ai souvent vu se contracter activement les pointes des ovaires, c'est sans doute par ce mécanisme que les œufs mûrs sont expulsés dans les voies génitales. L'*oviducte impair* s'élargit bientôt et forme l'*utérus* qui débouche à son tour par sa partie *vaginale* dans l'orifice génital femelle. Au niveau de la limite entre l'*oviducte* et l'*utérus* s'insère ventralement un organe tubulaire assez allongé et fermé en cul-de-sac. C'est le *réceptacle séminal ventral* qui, enroulé en un petit peloton, repose habituellement sur la paroi de l'*utérus*. A l'opposé, sur la face dorsale, se détachent deux fins canalicules qui rejoignent chacun un petit organe arrondi, caractérisé par une capsule chitineuse interne, visible par transparence; ce sont les deux *spermathèques* ou réceptacles séminaux dorsaux. Ceux-ci reçoivent, comme d'ailleurs l'organe ventral, les spermatozoïdes introduits pendant l'accouplement. Avant d'être pondu, chaque œuf séjourne quelque temps dans l'*utérus* et son micropyle, placé près des embouchures des réceptacles, reçoit alors un certain nombre de spermatozoïdes. La figure, Pl. 11, *d*, montre un œuf en position de fécondation, les cornes encore engagées dans l'*oviducte*. Un peu plus bas que les canalicules des *spermathèques*, on aperçoit dorsalement deux autres conduits très semblables, par lesquels débouchent les *parovaires*, organes glandulaires, dont la sécrétion constitue peut être un activant des spermatozoïdes après l'accouplement (voir NONIDÉZ). Je mentionne enfin que j'ai souvent remarqué sur la paroi externe de l'*utérus* de nombreuses *papilles* très fines qui lui donnaient un aspect velu. NONIDÉZ ne les a pas décrites et je dois avouer que leur présence n'était pas constante chez les *Drosophiles*, dont certaines pouvaient avoir une paroi utérine parfaitement lisse. Je n'entrerai pas ici dans les détails de la structure histologique de ces *papilles*, dont la signification m'est restée inconnue.

CHAPITRE III. — STRUCTURE DES GONADES LARVAIRES, NYMPHALES ET IMAGINALES.

Il serait très intéressant de pouvoir suivre l'évolution de la glande génitale à partir de la pénétration des cellules germinales polaires, à travers la vie de la larve et pendant la nymphose, jusqu'à l'organisation de la gonade adulte. Les expériences de castration par les rayons ultra-violets montrent que cette dernière renferme toujours, en plus des éléments germinaux, des cellules vraisemblablement d'origine mésodermique et jouant des rôles divers (cellules pariétales, cellules folliculaires, cellules nourricières). Ces cellules, très visibles chez les castrats, où manquent les cellules sexuelles, sont plus disséminées et plus difficiles à voir dans les glandes normales. Leur origine et leur évolution sont encore incertaines.

N'ayant pas fait une étude spéciale des gonades chez les larves et pendant la nymphose, je me contenterai ici de quelques indications générales.

Période larvaire.

L'ébauche génitale de la *Drosophile*, qu'elle soit appelée à donner un ovaire ou un testicule, se présente dans la jeune larve sous forme de deux corpuscules arrondis, enfouis, au niveau du 9^{me} segment, dans le tissu adipeux. En observant la partie postérieure d'une larve vivante, on les voit parfois apparaître entre les lobes adipeux, des deux côtés du vaisseau dorsal, comme deux petites boules transparentes. WEISMANN (1864) en donne une description semblable chez *Musca vomitoria* et *Sarcophaga* et il ajoute que ces corpuscules se continuent en arrière par deux cordons génitaux (considérés par lui comme les voies génitales en formation = « Geschlechtsausführungsgänge ») qui se rejoignent chez le mâle en un cordon commun, tandis qu'ils restent séparés chez la femelle. Sur coupe il m'a parfois semblé apercevoir le début de ces cordons, mais je n'ai jamais pu les suivre plus loin, — entreprise d'ailleurs assez difficile sur un objet aussi petit. Il ne semble pas non plus que les jeunes gonades soient fixées au tissu environnant par des ligaments spéciaux, comme cela a été décrit chez d'autres insectes. WEISMANN a signalé une différence de taille entre les gonades mâle et femelle et je peux confirmer qu'il en est ainsi chez la *Drosophile*, où cette différence est marquée dès le début.

Quels sont les éléments cellulaires qui composent intérieurement ces ébauches génitales et dans quel sens évoluent-ils par la suite ? C'est là une question à laquelle on ne peut répondre complètement pour le moment. Nous avons vu dans le premier chapitre que les cellules polaires sont appelées à donner naissance à la lignée germinale, mais qu'elles s'unissent, au cours de l'embryogenèse, avec des éléments somatiques, très probablement mésodermiques. Peut-on distinguer dans l'ébauche génitale larvaire ces deux catégories de cellules ? Sans entrer dans les détails, j'indiquerai seulement que j'ai observé, à côté des éléments qui sont nettement en train de se développer en produits sexuels, d'autres cellules qui conservent assez longtemps un état embryonnaire et n'entrent en activité qu'au moment de la nymphose.

a) *Le testicule larvaire.*

Cette particularité peut s'observer plus facilement dans le testicule dont le développement est en avance sur celui de l'ovaire. C'est pourquoi la glande mâle est de bonne heure plus volumineuse, en même temps que l'évolution des éléments germinaux y est plus précoce. Tout au début de la vie imaginaire, le mâle présente, en effet, des testicules mûrs en pleine spermatogenèse et ayant déjà atteint leur taille définitive; l'ovaire de la femelle, au contraire, est à peine entré en ovogenèse, ne contient pas encore d'œufs mûrs et a une taille réduite. (Comparer les fig. 12 et 15). Il en résulte que, bien que le premier accouplement se fasse d'habitude peu d'heures après l'éclosion, la ponte ne peut commencer que deux à trois jours plus tard.

Le testicule larvaire est entouré d'une membrane apparemment amorphe sur laquelle on distingue, de temps à autre, des cellules très petites et complètement aplaties (*cellules pariétales*). Cette membrane renferme le tissu testiculaire proprement dit: au pôle antérieur on voit un îlot de très petites cellules auquel font suite des rangées semi-circulaires de cellules de plus en plus grosses qui s'étendent jusque dans la partie postérieure du testicule. On a l'image d'une zone de prolifération antérieure, suivie en arrière des éléments qui en proviennent et qui sont en train de s'accroître. Il n'y a pas de doute qu'une partie des petites cellules au sommet soient des *spermatogonies* et que les grosses cellules représentent des *spermatocytes I*. Nous les retrouverons dans les testicules

nymphaux et imaginaires où ils conservent le même aspect. Cette lignée germinale représente sans aucun doute la descendance des cellules polaires. Dans la partie postérieure du jeune testicule, on observe un autre îlot, composé de très petites cellules embryonnaires qui ne sont pas en activité pour le moment, mais qui, j'ai pu l'établir, donneront naissance, à la fin de la période nymphale, à l'épithélium qui tapisse la paroi du testicule et du spermiducte. Ces éléments, que j'appellerai les *cellules des canaux*, sont certainement d'origine mésodermique.

Il semblerait, d'après cette description, que le testicule ne renferme que deux sortes d'éléments nettement séparés : d'une part les cellules germinales en prolifération dans la zone antérieure et évoluant dans le reste de la glande ; d'autre part un îlot postérieur de cellules mésodermiques destinées à prolonger le testicule et à former la paroi du spermiducte. Cependant, en examinant attentivement la zone antérieure de prolifération, on y observe, à côté des cellules germinales primordiales, à protoplasme abondant et basophile, quelques éléments plus petits, ayant très peu de protoplasme qui pourraient avoir une autre origine. Nous les appellerons ici brièvement *cellules de l'apex*. Je reviendrai sur l'importance de cette constatation lors de l'étude histologique de la gonade chez le mâle castré.

b) *L'ovaire larvaire.*

Dans le cas de l'ovaire, l'observation et l'interprétation se heurtent à des difficultés beaucoup plus grandes qui proviennent surtout de l'évolution tardive qui caractérise cet organe. Très petit et presque entièrement sphérique, il est entouré, comme le testicule, d'une membrane vraisemblablement amorphe, dans laquelle je n'ai jamais pu découvrir de cellules. Cette membrane renferme une masse compacte de très petits éléments, serrés les uns contre les autres. Colorés à l'hématoxyline, ils se différencient lentement et plus difficilement que les autres cellules de l'organisme larvaire. Dans les larves d'âge moyen on commence à distinguer, à l'intérieur de cette masse cellulaire, deux régions : une moitié antérieure (céphalique), formée de cellules plates, entassées les unes sur les autres et une moitié postérieure, constituée par des éléments de forme arrondie et de taille inconstante. Nous sommes donc de nouveau en présence de deux catégories différentes de cellules, mais rien ne

permet de dire que l'une soit germinale, l'autre mésodermique. L'inconstance de taille des cellules rondes postérieures permet de se demander si l'on n'a pas affaire à un ensemble de deux sortes d'éléments d'origine et de signification différentes. Il est probable que l'ovaire larvaire représente un mélange encore inanalysable d'éléments germinaux et de cellules mésodermiques, dans lequel une certaine orientation structurale commence seulement à s'ébaucher. Pour le moment il est dans une sorte d'état embryonnaire; sa structure définitive ne s'établira qu'au cours de la nymphose; c'est seulement lorsque ses cellules se seront multipliées et auront subi un remaniement qu'il sera possible de reconnaître la lignée germinale et de dire quels sont les éléments destinés à évoluer dans un autre sens.

Période nymphale.

La pupaison, période si importante pour tout ce qui concerne l'élaboration de l'organisme imaginal, correspond également à une phase décisive dans le développement des gonades.

a) *Le testicule nymphal.*

Nous avons déjà pu observer des spermatogonies et des spermatocytes à l'intérieur du testicule larvaire; cette première poussée de spermatogenèse continue dès le début de la nymphose plus activement. Elle a été décrite en détail par GUYÉNOT et NAVILLE (1928) et je me borne à en rappeler brièvement les différentes phases. Les divisions spermatogoniales qui ont lieu dans la zone de prolifération, à l'extrémité antérieure du testicule, donnent naissance à des spermatocytes I, qui passent ensuite par une phase d'accroissement. Leur grand noyau arrondi est alors contenu dans un cytoplasme volumineux; serrés les uns contre les autres, les spermatocytes ont souvent des contours polygonaux (voir fig. 5). Par une première division de maturation, les spermatocytes I donnent naissance aux cytes II. Ces derniers sont de plus petite taille, bien qu'ils augmentent légèrement de volume pendant la phase intercinétique. A la deuxième division de maturation, les spermatocytes II se transforment en spermatides, cellules arrondies qui forment, dans la partie moyenne du testicule, des îlots plus ou moins importants. Par un processus d'allongement, les spermatides se trans-

forment en spermatozoïdes; ceux-ci sont groupés en faisceaux et implantés dans de grosses cellules qu'on trouve fréquemment dans la deuxième partie du testicule, et qui sont des cellules nourricières. C'est à l'intérieur de ces cellules, qui prennent alors une forme allongée et enveloppent complètement les faisceaux spermatiques, que la spermiogenèse s'achève. Les cellules nourricières dégénèrent ensuite, deviennent de moins en moins reconnaissables et ne se signalent finalement que par leur noyau qui reste encore longtemps accolé au paquet de spermatozoïdes. Le rôle de ces cellules nourricières est donc tout à fait comparable à celui des cellules de Sertoli chez les Mammifères.

La spermatogenèse, comme on le conçoit facilement, augmente considérablement la masse des cellules germinales, de sorte que le petit testicule du début ne pourrait plus les contenir. On observe par suite, parallèlement à la spermatogenèse, un allongement de la gonade qui se transforme en un tube de plus en plus long, qui commence, en même temps, à s'enrouler en spirale. A son extrémité antérieure se trouve toujours la zone de prolifération et, au fur et à mesure qu'on s'en éloigne, on rencontre des cellules germinales à des stades de plus en plus avancés: spermatocytes I et II, spermatides jeunes, spermatides en voie de transformation et finalement paquets de spermatozoïdes.

Quels sont maintenant les éléments non germinaux de la gonade ? Adressons-nous de préférence à des testicules jeunes, au début de la nymphose.

La capsule testiculaire est toujours formée par une membrane amorphe, encore blanchâtre, mais qui prendra, au cours de la vie imaginale, une teinte de plus en plus jaune; elle est peut-être de nature chitineuse. Sur coupes on rencontre, çà et là, logées à l'intérieur de la membrane même, des cellules ovales ou plates de grandeur variable. Ce sont vraisemblablement les *cellules pariétales*, cellules mères de la paroi, qui la recouvraient précédemment à la façon d'un endothélium externe. Le petit îlot de cellules mésodermiques, ou *cellules des canaux*, que j'ai déjà signalé à la partie postérieure du testicule larvaire, est toujours présent, mais ses cellules ont augmenté de masse et de taille et se trouvent juste à l'endroit où le testicule s'ouvrira plus tard dans le spermiducte. On les voit d'abord former une sorte de mamelon qui ne tarde pas à s'allonger en un cordon cylindrique et massif; puis les cellules

prennent une disposition radiaire, un lumen central apparaît et l'ébauche du spermiducte se trouve ainsi formée. Lorsqu'on prélève des testicules dans des pupes jeunes, on remarque qu'ils sont encore complètement isolés l'un de l'autre, tandis que, dans des pupes d'âge moyen, ils sont rattachés par leurs extrémités proximales au moyen des deux spermiductes qui se sont réunis pour former le fin canalicule commun que j'ai déjà signalé. *Le rôle des ilots mésodermiques est donc de former les spermiductes pairs et leur canal commun*; leurs éléments revêtent ces conduits en formant une couche épithéliale pluristratifiée qui s'étend également un peu en avant sur la portion basale de la paroi du testicule. CHOŁODKOWSKY

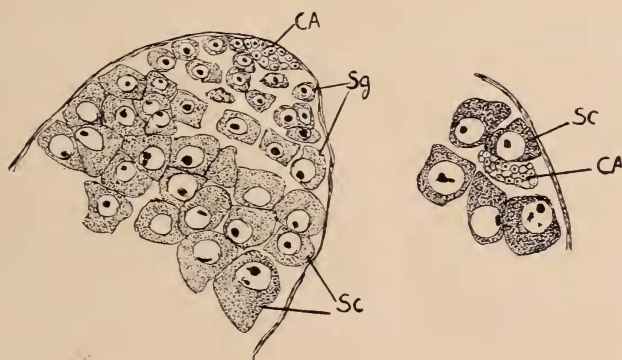


FIG. 5.

Deux ilôts de « cellules de l'apex » dans la zone de prolifération spermatogonale.

(1905) a signalé que, chez les Tipulides, les cellules épithéliales du spermiducte et du testicule produisent à leur intérieur des sphérules fortement colorables, qui sont expulsées à mesure dans le lumen testiculaire. J'ai fait la même observation chez la Drosophile, mais le rôle de ces corpuscules est resté inconnu. Un examen attentif de la zone de prolifération au sommet du testicule nous révèle de nouveau, et cette fois avec plus de précision, à côté des spermatogonies (qui se font de plus en plus rares à mesure que la spermatogenèse avance) des cellules d'un autre type, dont la taille est très inférieure à celle d'une spermatogonie et l'aspect tout à fait embryonnaire (fig. 5). Ce sont les « cellules de l'apex » CA, que j'ai souvent observées, réunies en un petit ilot très serré, tout à l'extrémité du

tube ou un peu latéralement contre la paroi. On retrouve, le long de cette dernière et parmi les cellules germinales en évolution, des éléments semblables dont la signification reste incertaine. Les grandes *cellules nourricières* enfin, déjà mentionnées par GUYÉNOT et NAVILLE (1928), se trouvent d'abord isolées le long de la paroi, surtout dans la partie moyenne et postérieure du tube. Après l'implantation des spermatozoïdes, elles subissent l'énorme hypertrophie que j'ai décrite. Dans le testicule nymphal jeune, les spermatozoïdes en formation viennent souvent presque au contact de l'îlot mésodermique postérieur, qui est en train de constituer le spermiducte; certains des éléments de cet amas présentent à ce stade une taille plus grande que les autres et semblent se détacher de l'îlot; il n'est donc pas impossible que celui-ci soit, par ce procédé, le lieu de formation des cellules nourricières. Une autre hypothèse consisterait à les faire dériver des cellules de l'apex. Je me borne pour le moment à signaler ces deux interprétations.

b) *L'ovaire nymphal.*

Tandis que la formation du testicule est due à une multiplication de la masse germinale, accompagnée d'un simple allongement de cet organe, l'ébauche génitale femelle subit une transformation plus complète.

La figure *a*, Pl. 13, nous montre qu'il se fait d'abord une sorte de sériation de la masse cellulaire jusqu'à alors à peu près uniforme et compacte et on voit apparaître, au bout d'un certain temps, toute une série de cordons, orientés dans le sens longitudinal et constitués par des cellules plates, empilées les unes sur les autres (gainés ovariennes). Des trainées de l'autre tissu, que j'appellerai *mésenchyme*, ont pénétré dans les espaces entre les cordons et les enveloppent de toute part. Les cordons s'allongent en avant jusque dans la pointe de l'ovaire, où ils se terminent par un bout aveugle un peu effilé (le futur filament terminal) et ne sont recouverts que par une mince couche mésenchymateuse; vers la partie postérieure, par contre, ils finissent aussi en cul-de-sac, mais sont noyés dans la masse du tissu conjonctif qui forme un coussinet assez épais entre le faisceau des cordons et le lumen de l'oviducte. Non loin de la pointe ovarienne, chaque cordon est interrompu par une sorte de loge ovale, dans laquelle se trouvent de grosses cellules à noyaux arrondis, à protoplasme basophile, mélangées de quelques

cellules plus petites, probablement moins évoluées mais ayant la même structure que les grosses.

La structure ovarienne est déjà typique. On reconnaît dans les cordons les jeunes *tubes ovariens* et dans les cellules, comprises dans la loge terminale, les *cellules germinales* ou *ovogonies primaires*; quant au mésenchyme, il isole déjà les tubes et constitue à l'extérieur l'enveloppe ovarienne.

Voici comment ces tubes évoluent ultérieurement. On appelle la loge aussi *chambre germinative*, car ses éléments sont en multiplication et c'est à partir d'eux que les œufs se forment un à un. Si l'on examine un ovaire, à un stade un peu plus avancé de la nymphose (fig. b, Pl. 13), on remarque que, derrière chaque chambre germinative, du côté de l'oviducte, commence à se dessiner une deuxième loge, cette fois tout à fait sphérique. Elle contient quelques ovogonies dont le protoplasme est devenu plus colorable; sa paroi est constituée par des cellules épithéliales plates, identiques à celles qui relient la première loge à la deuxième. Cette nouvelle loge, appelée aussi la *première chambre ovulaire*, contient donc un nid d'ovogonies qui s'est formé dans la chambre germinative, puis s'est séparé d'elle par intercalation de cellules plates, pour évoluer à l'avenir indépendamment dans la partie inférieure du tube ovarien. Je n'ai pas pu préciser le nombre exact des ovogonies contenues dans un nid¹, mais il est certain qu'une seule se transforme en *ovocyte*, tandis que les autres sont destinées à devenir des *cellules vitellogènes*. Quant aux cellules épithéliales, elles se transforment petit à petit en une assise régulière de *cellules folliculaires*.

Pendant que cette évolution se poursuit dans la première chambre ovulaire, un nouveau nid d'ovogonies se détache de la chambre germinative; des cellules plates s'intercalent et l'isolent comme précédemment. Le processus continue jusqu'à ce que chaque tube se compose d'un chapelet de loges, dont les plus avancées sont situées près de l'oviducte.

Lorsque la mouche éclot, l'œuf de la dernière loge se distingue des cellules vitellogènes par un noyau plus clair et un vitellus abondant. Le processus de maturation se poursuit pendant les deux à trois premiers jours de la vie imaginale.

¹ 16 d'après VERHEIN (1920), dont 15 cellules vitellogènes.

Pendant la deuxième moitié de la nymphose, j'ai pu observer dans les ovaires un phénomène singulier, qui est digne d'être signalé. On voit apparaître dans le tissu mésenchymateux, à la base et entre les tubes ovariques (mais jamais à l'intérieur), des *sphérules sidérophiles* de grandeur variable (fig. *a* et *b*, Pl. 13). Elles sont parfois tellement nombreuses et grosses, qu'on a de la peine à couper correctement les ovaires; ces corps sont vraisemblablement de nature lipoïdique et opposent une certaine résistance. Leur apparition coïncide à peu près avec la formation de la première chambre ovulaire, ce qui fait penser qu'elles sont l'expression d'un changement survenu dans le métabolisme général de l'ovaire. Plus tard les corps sidérophiles ont complètement disparu et ont laissé dans le mésenchyme des espaces qui lui donnent une structure désormais moins compacte. Je rappelle que j'ai observé des corpuscules semblables, mais beaucoup moins importants, dans les « cellules des canaux » du testicule (voir p. 207).

J'ajouterai que pendant la fin de la nymphose les testicules et plus particulièrement les ovaires entrent en contact avec le *système trachéen*. Dans le testicule on voit, par ci par là, de fines ramifications trachéennes s'appliquer simplement à la surface du tube, sans traverser la paroi. Dans l'ovaire, des faisceaux souvent très importants pénètrent latéralement dans le mésenchyme, à la base et entre les tubes ovariques, mais jamais à l'intérieur de ces derniers.

Période imaginale.

Ayant retracé dans ses grandes lignes l'évolution des gonades pendant la vie larvaire et nymphale, je décrirai maintenant leur structure définitive dans la mouche adulte. En la comparant plus tard à celles des gonades de mouches castrées, on sera mieux en mesure de juger comment se manifeste histologiquement la castration.

a) Le testicule imaginal.

Lorsque le mâle éclot, le testicule se trouve déjà au maximum de son activité; sa structure est pratiquement identique à celle que nous avons vu s'établir au cours de la période nymphale, bien qu'il soit plus difficile d'y retrouver toutes les phases de la spermatogenèse. La plupart des éléments germinaux se sont en effet trans-

formés en spermatozoïdes et il ne reste qu'une très petite réserve de spermatogonies, ainsi que de spermatocytes, qui pourront remplacer dans une certaine mesure les produits sexuels dépensés pendant les accouplements.

Je rappelle que, d'après mes observations, le testicule imaginal ou nymphal renferme les catégories cellulaires suivantes:

- a) Les *cellules germinales*, à noyaux volumineux.
- b) Les *cellules pariétales*, d'abord externes, puis emprisonnées dans l'épaisseur de la membrane jaune.
- c) Les *cellules des canaux*, dérivées d'un îlot mésodermique postérieur, formant la paroi épithéliale des spermiductes et du début des tubes testiculaires.
- d) Les petites *cellules de l'apex* observables à côtés des éléments germinaux et qui pourraient donner naissance aux *cellules nourricières*, à moins que celles-ci ne dérivent des éléments des canaux.

Nous ne possédons d'ailleurs que peu de données sur la structure générale du testicule des Diptères, l'attention des chercheurs s'étant portée surtout sur l'évolution de la lignée germinale. Le seul travail qui traite ce sujet d'une façon comparative est dû à CHOŁODKOWSKY (1905), mais cet auteur a commis l'erreur de faire ses observations sur des testicules adultes, remplis presque entièrement par la masse spermatique et dans lesquels l'identification des différents éléments est certainement plus difficile. Sans entrer dans les détails de ce travail assez fragmentaire, j'en rappellerai quelques points essentiels, intéressants au point de vue comparatif.

L'auteur note chez les *Asilidae*, *Therevidae*, quelques *Syrphidae* et certaines *Muscidae* la présence d'une cellule, dite *apicale*, connue aussi sous le nom de *cellule de Verson*, et qui a été décrite principalement chez les Lépidoptères et les Orthoptères. Cet élément géant, souvent plurinucléé, se trouve à l'apex du tube testiculaire, où il est en contact étroit avec les spermatogonies en multiplication. On lui a attribué, à tort ou à raison, un rôle nutritif et une origine germinale. L'auteur a surtout bien pu observer la cellule apicale chez *Laphria* (*Asilidae*); quant aux *Muscidae*, il croit pouvoir interpréter chez *Musca domestica* une zone claire au sommet du

testicule (dans la zone de prolifération) comme étant le vestige d'une cellule apicale; chez *Calliphora* il n'en a pas trouvé trace. Je n'ai jamais rencontré une cellule de Verson dans le testicule de la *Drosophile*, quel que soit le stade observé, et je crois pouvoir affirmer qu'elle y fait complètement défaut; elle n'a d'ailleurs jamais été mentionnée chez cette espèce. A part cet élément, CHOLODKOVSKY cite les catégories cellulaires suivantes:

1. Les cellules plates de la capsule colorée.
2. Les cellules épithéliales du spermiducte qui s'étendent complètement ou partiellement sur la face interne de la paroi.
3. Des prolongements de la couche épithéliale qui pénètrent parmi les éléments germinaux et qui sont occupés par des cellules que l'auteur a tendance à considérer comme éléments nourriciers.
4. Les éléments germinaux proprement dit, spermatogonies, spermatocytes, spermatozoïdes que l'auteur a souvent eu de la peine à identifier, vu l'état de maturité trop avancé.

Il semble donc que le testicule des Diptères ait une structure assez typique et constante. Celui de la *Drosophile*, que je viens de décrire, rentre assez bien dans ce schéma général.

b) *L'ovaire mûr.*

Une comparaison des figures 12 et 15 montre dans quelle proportion l'ovaire s'accroît à partir de l'éclosion jusqu'à la première ponte; cela est uniquement dû à la maturation des œufs qui se chargent de vitellus et grandissent considérablement. La structure d'un tube ovarique mûr ne diffère donc pas essentiellement de celle d'un tube nymphal, sauf qu'elle est maintenant mieux définie et que le tube contient environ 5 à 6 loges. La chambre germinale renferme toujours une réserve d'ovogonies. Les cellules épithéliales des anciens cordons constituent le court *filament terminal*, par lequel les tubes sont fixés à l'enveloppe mésenchymateuse; les mêmes cellules relient en outre les loges entre elles en formant un cordon cellulaire souvent à peine visible; on les rencontre enfin sous la forme des cellules folliculaires qui forment un épithélium cylindrique unistratifié autour des cellules vitellogènes et de l'ovocyte. Le futur œuf est régulièrement situé à la base de la

loge, du côté de l'oviducte, il s'accroît aux dépens des cellules vitellogènes qui finissent par devenir rudimentaires et surmontent alors l'œuf comme une simple petite coiffe. Les cellules folliculaires sécrètent plus tard le chorion de l'œuf et dégénèrent ensuite. Le passage de l'œuf mûr dans l'oviducte se fait par une déhiscence du mésenchyme basal qui a, jusqu'alors, séparé les tubes ovigères du lumen de l'oviducte.

Je n'ai pas à entrer ici dans les détails cytologiques de l'ovogenèse, qui ont été décrits par GUYÉNOT et NAVILLE (1928).

Voici, d'après ma description, quelles sont, en résumé, les catégories cellulaires de l'ovaire :

<i>Cellules germinales</i>	{	Ovogonies, qui donnent l'œuf et les <i>cellules vitellogènes</i>	
		— <i>Cellules mésenchymateuses</i> enveloppant tubes et ovaires	
<i>Cellules somatiques</i>	{	— Cellules plates des cordons nymphaux donnant le filament terminal et raccordant les loges les unes aux autres formant enfin, autour de chaque chambre ovulaire, l'assise des cellules folliculaires	{ Portent le nom commun de <i>Cellules épithéliales</i>

On a beaucoup discuté sur l'origine des différents éléments de l'ovaire chez les insectes, et cela à une époque où le mode de formation de cet organe était complètement ignoré. On s'est contenté de décrire la structure des ovaires adultes et d'émettre ensuite des opinions sur l'origine de l'œuf, des cellules vitellogènes et des cellules folliculaires; l'hypothèse qui fut primitivement la plus répandue consistait à faire dériver tous ces éléments d'une même souche (KORSCHULT, 1886, et d'autres). La découverte des cellules polaires dans l'œuf et le fait qu'on a pu les reconnaître chez beaucoup d'insectes en tant qu'éléments sexuels initiaux, ruina cette hypothèse, de sorte que les travaux plus récents s'efforcent de présenter une autre interprétation.

Je dois citer ici surtout le travail de VERHEIN (1920) qui donne la première description histologique de l'ovaire des Muscides (*Musca vomitoria*, *Sarcophaga carnaria*, *Musca domestica*) en se

basant non seulement sur l'ovaire adulte mais aussi sur l'examen de tubes ovariens nymphaux. Il y trouve les mêmes cellules plates coiffant la partie supérieure et prolongeant la partie inférieure de chaque tube. Mêlées aux *cellules germinales*, il observe des petites cellules, dont la structure semble très voisine de celle des cellules plates; il désigne les deux sous le nom de *cellules épithéliales*. Les cellules plates formeront le filament terminal et les éléments de liaison entre les loges; les petites cellules donneront les cellules folliculaires. Les ovogonies se transforment soit en œuf soit en cellules vitellogènes.

L'auteur voit dans la différence structurale si précoce de ces éléments une indication relative à leur origine et il conclut que les cellules épithéliales descendent vraisemblablement de cellules mésodermiques qui ont rejoint les cellules polaires au cours de l'embryogenèse.

Je suis en accord avec VERHEIN, sauf en ce qui concerne les petites cellules. L'examen histologique d'un grand nombre d'ovaires nymphaux m'a donné la conviction que, chez la *Drosophile*, la chambre germinative ne contient que des cellules du même type, à savoir des cellules germinales plus ou moins évoluées, et que ce sont les cellules plates des cordons qui isolent et tapissent les chambres ovulaires, se transformant ainsi partiellement en cellules folliculaires. J'espère pouvoir reprendre cette intéressante question dans un travail ultérieur.

La formation des voies génitales et de leurs annexes.

Le seul travail relatif à la formation des voies génitales chez les Muscides est celui de BRÜEL (1897) qui a constaté, sur la larve et la puppe de *Calliphora erythrocephala*, que l'appareil génital des mouches a une double origine. D'un côté, les glandes génitales se développent isolément, comme nous venons de le décrire; de l'autre côté, l'ensemble des voies génitales et de leurs annexes (oviducte, utérus, vagin, vulve, réceptacles séminaux, glandes annexes des femelles; spermiductes pairs, canal déférent impair, glandes prostatiques, pompe et canal éjaculateurs des mâles) se forment à partir de disques imaginaux spéciaux, situés dans le segment anal. On distingue trois disques; un grand médian et deux plus petits que l'on aperçoit déjà dans la larve et qui entrent surtout

en activité au cours de la nymphose, où ils donnent, dans les deux sexes, par des processus assez complexes d'invagination et de plissement, naissance à l'appareil génital. Les oviductes et les spermiductes (pairs) s'étendent en avant où ils arrivent au contact des gonades et bientôt s'établit la communication.

Les « cordons génitaux » que WEISMANN a pris pour l'origine des voies génitales (voir p. 202) ont également été vus par BRÜEL, mais il a constaté qu'ils se raccourcissent considérablement au fur et à mesure que les conduits définitifs se développent, et finissent par disparaître.

J'ai pu me rendre compte, que, chez la *Drosophile*, les choses se passent d'une façon très analogue, mais je n'ai jamais réussi à observer en détail de quelle manière s'établit la communication entre les conduits pairs et les gonades. Il est possible que, dans le cas de la femelle, on puisse accepter d'emblée la description de BRÜEL. Pour ce qui est du mâle, je possède cependant des observations contraires. Nous savons que les spermiductes pairs et leur petite portion commune se forment à partir des îlots mésodermiques (p. 207); c'est donc seulement à partir du grand canal déférent que l'appareil génital mâle dérive des disques imaginaux. La figure *a*, Pl. 12 montre comment les spermiductes réunis pénètrent dans la paroi du canal déférent et s'ouvrent à l'intérieur de son vaste lumen. La structure histologique de ce conduit impair diffère visiblement de celle des spermiductes.

Les disques imaginaux eux-mêmes proviennent sans doute de l'hypoderme, seraient donc des *formations ectodermiques*.

Ainsi l'appareil génital complet de *Drosophila* se présente à nous, en ce qui concerne ses origines, comme une mosaïque, dont les trois éléments sont les cellules polaires, les cellules mésodermiques et les disques imaginaux ectodermiques.

DEUXIÈME PARTIE

CASTRATION EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE IV. — MATÉRIEL ET TECHNIQUE.

Après quelques essais préliminaires sur *Musca domestica* dont je ne parlerai pas ici, je me suis exclusivement servi, pour mes expériences, d'une race sauvage de *Drosophila melanogaster* que j'ai facilement pu me procurer dans une vinaigrerie, près de Genève. Je désignerai cette race « sauvage genevoise » par le sigle S.G. L'élevage de ces mouches a été pratiqué en étuve, à la température constante de 24° qui constitue l'optimum pour une bonne reproduction. Selon la méthode perfectionnée de GUYÉNOT (1917), j'ai utilisé des milieux constitués par un mélange de levure et de vinaigre sur coton. Les récipients sont des fioles d'Erlenmeyer grandes et moyennes servant à l'entretien des stocks ou aux élevages en vrac. La reproduction par couple se fait dans des tubes à essais où un contrôle quotidien sous le binoculaire est plus facile. Pour le transport des mouches, j'ai également adopté l'ingénieuse technique de GUYÉNOT. Des bouchons de coton perforés d'une baguette de verre permettent d'introduire des tubes de verre correspondants, munis d'un renflement et d'un filtre, dans leur partie postérieure. Par ce moyen, les mouches peuvent être extraites d'un milieu par simple aspiration et réintroduites dans un autre; cette manipulation a l'avantage de pouvoir se faire aseptiquement. Tous les milieux ont été stérilisés à l'autoclave ce qui permet de fabriquer en une fois la provision nécessaire pour plusieurs semaines. Les mouches à examiner ont été endormies préalablement dans des vapeurs d'éther. Les autopsies ont été pratiquées dans la solution de RINGER.

Si on laisse pondre des femelles choisies au hasard parmi les témoins et qu'on examine au bout d'une à deux heures ces œufs

fraîchement pondus, on s'aperçoit que leur âge est très variable: les uns se trouvent, en effet, tout au début de leur développement embryonnaire, au stade de blastème germinatif, avec des noyaux de segmentation au centre; d'autres sont plus avancés, ont déjà formé leurs cellules polaires, tandis que le blastoderme est en train de se constituer. Dans une troisième catégorie, on observe des embryons d'âge moyen qui présentent déjà l'invagination amniotique. D'autres, enfin, contiennent des embryons plus différenciés ou même des larves prêtes à éclore. Cette inconstance dans le degré de développement des œufs provient du fait que, pour que la ponte se fasse régulièrement, certaines conditions du milieu doivent être remplies. La ponte se fera aisément sur un milieu frais qui est riche en matière nutritive et a un degré d'humidité convenable. Mais, comme cela ne peut pas toujours être le cas dans les stocks d'élevage, qui s'épuisent rapidement, les pontes sont retardées, et les œufs, une fois fécondés, commencent leur développement à l'intérieur du corps maternel. GUYÉNOT (1913) a même observé de la « viviparité » chez des mouches ayant vécu longtemps sur un milieu très sec où le réflexe de ponte ne pouvait être déclenché. Comme je m'étais proposé d'irradier les œufs à un stade parfaitement défini, alors que les cellules polaires sont constituées ou un peu avant, ces irrégularités dans l'état des œufs fraîchement pondus présentaient un grave inconvénient.

Pour y remédier, j'ai cherché à faciliter le réflexe de la ponte, afin que les œufs soient immédiatement évacués. Comme je devais disposer, pour chaque série expérimentale, d'un nombre d'œufs aussi élevé que possible et qu'une seule femelle ne peut fournir à la fois qu'un nombre très limité d'œufs jeunes, j'ai procédé de la manière suivante: je choisis tout d'abord 100 à 150 jeunes femelles le lendemain de leur éclosion et je les isole par deux ou trois dans des tubes avec quelques mâles dans le but de sélectionner les meilleures pondeuses, car il y a toujours des femelles très peu fertiles qui ne conviennent pas pour les expériences. On prépare pendant ce temps deux séries, composées chacune de 15 à 20 tubes frais. Dans la deuxième série, le milieu nutritif est entièrement recouvert de papier filtre noir, imbibé de vinaigre, ce qui permet de distinguer aisément les œufs blancs opaques. Les femelles bonnes pondeuses sont alors distribuées avec les mâles dans les tubes de la première série, à raison de 5 à 6 couples par tube, ce

qui fait un total de près de 100 femelles. Maintenues ainsi à 24 ° sur ces milieux frais, elles continuent à évacuer leurs œufs régulièrement et sans retard. Les irradiations peuvent alors avoir lieu dans la même journée ou pendant les 2 journées suivantes. Si un tube de la série 1 ne semble plus assez humide, ce qui arrive rarement, il est remplacé par un autre. Les mouches pondeuses de la première série sont ensuite transportées dans les tubes correspondant de la deuxième série, puis remises à l'étuve. Le changement de milieu entraîne d'abord une inhibition de la ponte qui ne dure guère plus d'un quart d'heure, après quoi les pontes reprennent régulièrement et sont déposées sur les fonds noirs humides. Si l'on retire alors les mouches au bout de trois quarts d'heure ou une heure pour les remettre dans les tubes de la première série (en vue d'un emploi ultérieur), on est sûr d'avoir dans les récipients de la deuxième série des œufs dont la plupart sont au stade convenable. Ces œufs, facilement visibles sur les fonds noirs, sont alors rapidement recueillis à l'aide d'un pinceau fin, sous le contrôle du binoculaire et utilisés soit comme œufs témoins, soit pour l'exposition.

J'ai pu établir d'une façon certaine qu'à la température constante de 24 ° l'arrivée des noyaux de segmentation au pôle postérieur, et presque simultanément sur toute la périphérie de l'œuf, se fait 2 h. 10 à 2 h. 15 après la ponte. Quand le dépôt des œufs est effectué dans les conditions précises que je viens d'indiquer, le stade *blastème* dure donc largement 2 heures. Puis les cellules polaires s'individualisent et constituent bientôt le petit amas d'initiales sexuelles que j'ai décrit. Mais, 3 heures après la ponte, celles-ci commencent déjà à émigrer dorsalement, ce qui donne pour la durée du stade «*cellules polaires*» tout au plus 45 minutes.

Si l'on désire irradier le stade blastème, les œufs sont immédiatement placés dans l'appareil que je décrirai plus loin. Cette dernière manipulation nécessitant $\frac{1}{2}$ heure environ, les expositions au stade blastème ont presque toutes été réalisées dans la première heure qui suit la ponte. Pour irradier les œufs au stade de cellules polaires, il suffit de calculer le temps nécessaire pour la mise en place et l'on commence l'irradiation 2 h. $\frac{1}{4}$ à 2 h. $\frac{1}{2}$ après la ponte. Chaque exposition, soit au stade blastème, soit au stade des cellules polaires, a été accompagnée de la fixation simultanée d'un nombre correspondant d'œufs témoins. L'examen de ces œufs, colorés *in toto*, montre que cette manière de procéder permet d'obtenir 80 % d'œufs

se trouvant au stade désiré. Je ne crois pas qu'il soit possible d'atteindre une précision plus grande, surtout lorsqu'on est obligé de travailler sur un grand nombre d'œufs. Parallèlement à chaque série irradiée, j'ai d'habitude élevé une vingtaine d'œufs témoins provenant des mêmes pontes.

Pour compléter les données se rapportant à la durée des différents stades du développement de la *Drosophila*, j'ajouterai que l'évolution *embryonnaire complète*, de la ponte jusqu'à l'éclosion de la jeune larve, dure 24 heures environ; la durée de la *période larvaire* est de 5 à 6 jours et la *nymphose* s'étend sur 5 jours, ce qui donne un total de 12 jours pour le cycle complet, à condition que la température soit maintenue à 24° et que l'humidité et l'alimentation soient convenables.

La longueur totale de l'œuf peut légèrement varier suivant les pontes, j'ai trouvé une moyenne de 0^{mm},56. Comme les figures 4 et 8 le montrent, les cellules germinales occupent une aire très restreinte qui constitue environ 1/25 de la longueur totale. Il est toutefois impossible d'assigner au pôle sexuel des dimensions exactes car celles-ci varient avec les individus et suivant l'état de développement des cellules polaires. L'œuf vivant étant complètement opaque, j'ai étudié sur des préparations *in toto* la dimension moyenne de l'aire germinale et j'ai acquis ainsi des données assez précises sur l'étendue de la zone qu'il fallait soumettre à l'irradiation.

Pour n'exposer que la calotte postérieure, il fallait trouver un moyen permettant de protéger le reste de l'œuf avec un écran imperméable aux rayons. Dans mes essais sur *Musca domestica*, j'avais découpé de petits morceaux de papier d'étain servant à recouvrir chaque œuf; mais ce procédé pénible, de trop longue durée et peu précis, a dû être abandonné; il était presque inapplicable aux œufs beaucoup plus petits de la *Drosophila*. J'ai alors imaginé un *appareil* dont je donne la photographie sur la Pl. 9 et deux figures schématiques dans le texte (fig. 6 et 7). Cet appareil devait répondre aux exigences suivantes: possibilité d'exposer 20 à 40 œufs à la fois et de les recouvrir avec un seul écran; le réglage de l'écran devait être *rapide et précis*; les œufs devaient pouvoir être préservés contre la *dessication*.

Ayant déterminé une moyenne pour la longueur et l'épaisseur des œufs, je me suis procuré chez un horloger une *roue dentée* de

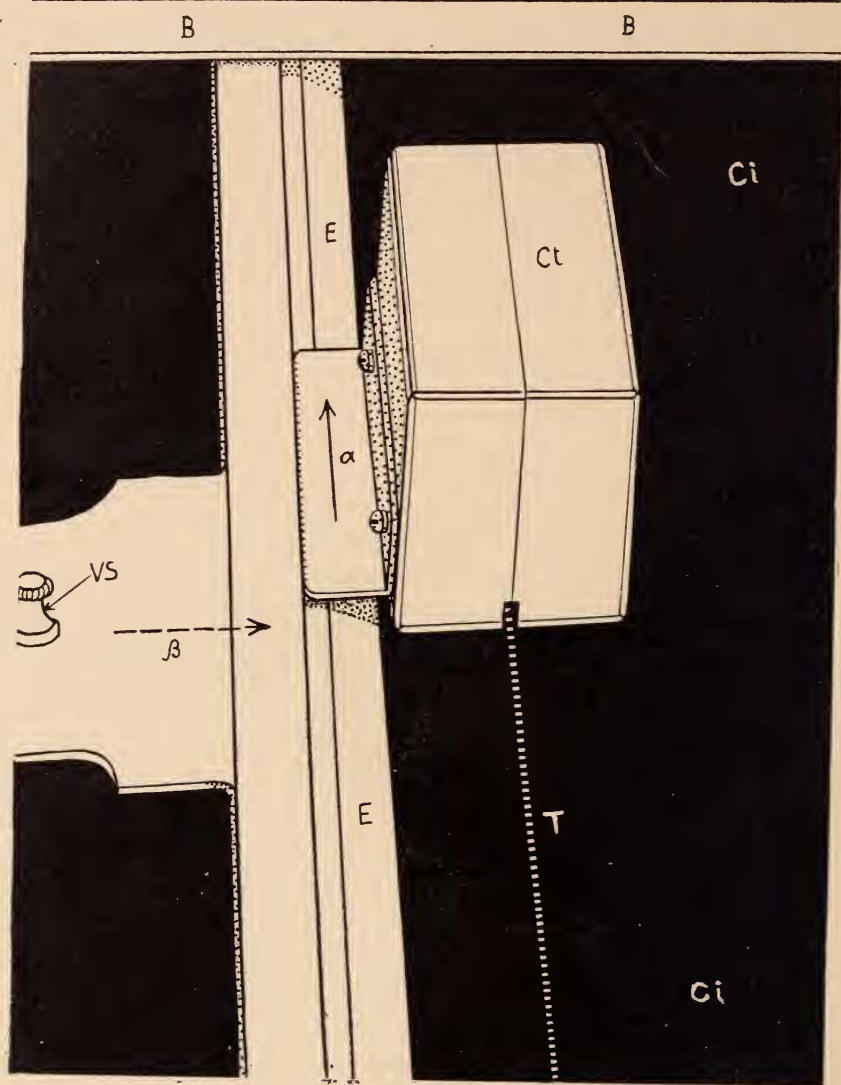


FIG. 6.

Figure schématique montrant le chariot (Ct) glissant sur la surface de cire (Ci) le long de l'écran (E) dans la direction de la flèche α . Pendant cette manipulation les dents de la roue (comprise à l'intérieur du chariot) laissent dans la cire des empreintes qui seront les loges pour les œufs; elles forment dans leur ensemble le tracé (T), laissé en blanc sur la figure. B = bord de la plaque de cire servant en même temps de butoir pour le chariot. VS = Vis de serrage de l'écran. La flèche β indique la direction dans laquelle l'écran sera plus tard déplacé (à l'aide de la vis micrométrique) en vue de la protection des œufs au niveau du tracé.

montre, dont les dents avaient des dimensions légèrement supérieures à celles des œufs. Lorsqu'on promène cette roue sur une matière molle, les dents laissent une trainée formée d'un grand nombre de petites empreintes juxtaposées qui correspondent à autant de petites loges prêtes à recevoir les œufs. Comme matière molle pour l'empreinte, j'ai choisi, après plusieurs essais, de la *cire d'abeille* pure que je mélangeais avec du noir de fumée afin d'obtenir un fond noir, sur lequel les œufs se détachent bien. Cette cire noire a été coulée ensuite sur une *plaque de métal* entourée d'un *cadre* rectangulaire, puis égalisée à chaud à l'aide d'une *règle métallique* parfaitement droite afin d'obtenir une surface complètement plane.

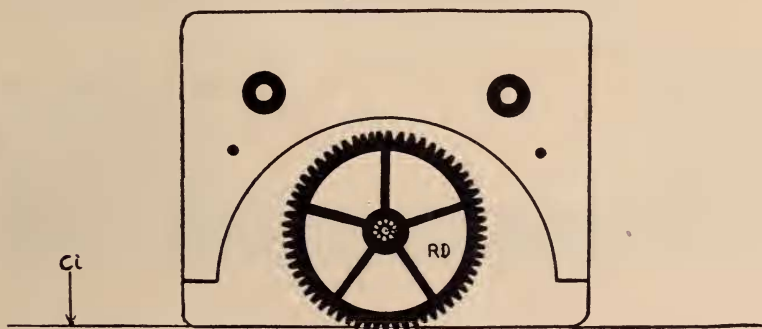


FIG. 7.

Coupe longitudinale à travers le chariot montrant la disposition de la roue dentée (R D) dont quelques dents dépassent juste la surface de contact. Lorsqu'on avance le chariot sur la cire (Ci) la roue tourne librement et les dents creusent les loges.

La longueur de la plaque de cire a été calculée de manière à pouvoir placer côte à côte, sur une seule ligne, une centaine d'œufs environ. L'axe de la roue dentée a été fixé dans un bloc de laiton massif et parfaitement lisse, qui forme une sorte de *chariot*, pouvant glisser sur la cire, tandis que la roue tourne librement. Cette dernière est placée, à cet effet, dans une fente de façon à ce que ses dents ne dépassent que très peu la surface lisse du bloc, juste assez pour laisser dans la cire leurs empreintes, dont la profondeur doit correspondre à l'épaisseur des œufs. J'ai ensuite fait faire un écran en laiton, à bord antérieur biseauté et parfaitement droit qui a deux fonctions à remplir: en faisant glisser le chariot sur la

cire je suis régulièrement le bord de cet écran ce qui permet d'obtenir un tracé aussi rectiligne que l'écran lui-même. Lorsque d'autre part on avance cet écran au moyen d'une *vis micrométrique*, il est possible de recouvrir toutes les empreintes du tracé et par suite tous les œufs de la même façon. La plaque de cire peut être fixée par un dispositif spécial sur une *planche* de bois dur rigoureusement plane, tout en restant amovible. Sur la même planche est ajustée la vis micrométrique et l'écran; ce dernier est disposé au-dessus de la

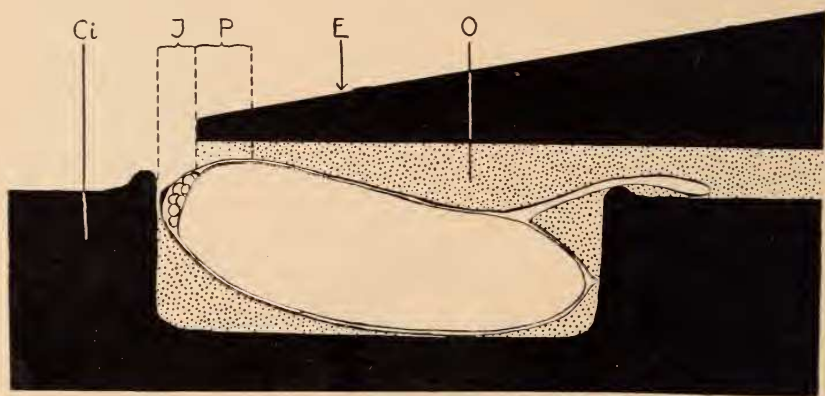


FIG. 8.

Coupe longitudinale schématique à travers un œuf au stade blastoderme, placé dans une des loges de cire et protégé partiellement par l'écran (E). Pendant l'irradiation les cellules polaires seules peuvent être pleinement touchées (J). Plus en arrière s'étend la zone de pénombre (P) à intensité diminuée et qui est déterminée par la distance entre l'écran et la surface de l'œuf. Tout le reste de l'œuf est plongé dans l'ombre totale (O).

plaque de cire et peut être appliquée à sa surface par une *vis de serrage*.

La figure 8 représente une coupe schématique à travers l'écran et la plaque, qui montre de quelle manière les œufs sont disposés pour l'exposition. Avec un fin pinceau humecté on les place les uns à côté des autres dans les petites loges, le pôle antérieur avec les cornes tourné vers l'écran, la face dorsale orientée du côté de la source lumineuse. On évite la dessiccation en introduisant dans chaque loge une gouttelette de vinaigre ou d'eau distillée. Puis on fait avancer l'écran en tournant la vis micrométrique et en contrôlant l'opération sous le binoculaire. L'appareil est alors

placé sous la lampe de quartz; au début de l'irradiation on a encore la possibilité de perfectionner le réglage de l'écran en observant avec un binoculaire mobile les pôles postérieurs des œufs qui doivent seuls être éclairés¹. Une fois l'exposition terminée, on éteint la lampe, on déplace l'écran et on enlève les œufs qui sont déposés sur un petit morceau de papier filtre humide, contenu dans un tube de culture fraîchement préparé. Leur développement se fait à l'étuve à 24°.

Cet appareil qui a beaucoup facilité la réalisation de ce travail présente cependant quelques *défauts* qui ont certainement influencé les résultats.

Il est évident qu'il y a toujours de petites différences dans la manière de placer les œufs dans les loges. Un travail manuel n'est jamais mathématiquement exact, de sorte qu'un œuf peut être situé légèrement plus en arrière ou plus en avant que celui de la loge voisine. En alignant les œufs, il fallut tenir compte en outre de leur longueur, qui, comme on le sait, peut varier légèrement.

En outre, la moindre petite inégalité dans l'application du chariot contre la cire d'une part et contre l'écran d'autre part, pendant qu'on effectue le tracé, entraîne de petites déviations de ce dernier qui n'est plus parfaitement parallèle au bord de l'écran. Il est donc rare qu'un tracé puisse être utilisé sur toute son étendue et j'ai généralement dû faire un choix de façon à n'utiliser que les zones les plus parfaitement rectilignes. C'est pour cette raison que, dans mes séries, le nombre des œufs exposés à la fois ne dépasse généralement pas 35.

Je signale enfin un troisième point: théoriquement l'écran devrait s'appliquer intimement à la surface des œufs pendant l'exposition (vis de serrage!). Or, la disposition des œufs dans les loges étant variable et leur diamètre n'étant pas toujours exactement le même, il est pratiquement impossible que cette condition soit réalisée sur tout le tracé. Il y aura donc dans la majorité des cas une petite distance (voir fig. 8) entre le chorion et le bord de l'écran. Plus cette distance sera grande, moins la limite entre la zone irradiée et la zone obscure sera nette. Il y aura entre les deux une *zone intermédiaire de pénombre* dans laquelle l'intensité lumineuse ira en diminuant progressivement.

¹ La lampe émet des rayons ultra-violetés mélangés à des rayons violets, ce qui rend la radiation visible.

Ces différences individuelles, si minimales soient-elles, peuvent avoir des conséquences importantes lorsqu'il s'agit d'atteindre des objets qui sont de l'ordre des dimensions cellulaires. La figure 8 montre comment, lorsque l'œuf est déplacé légèrement vers la gauche, l'irradiation ne frappe plus seulement les cellules polaires, mais aussi une partie du blastoderme environnant; par suite d'un déplacement à droite, les cellules polaires ne seraient plus irradiées ou ne le seraient qu'en partie. Ce sont là des sources d'erreurs inévitables. Quant à la radiation de faible intensité qui pénètre dans la zone intermédiaire, elle n'atteint jamais la valeur d'une dose mortelle, mais nous verrons dans les chapitres V, p. 234 et X p. 266, qu'elle n'est cependant pas négligeable.

La source lumineuse était constituée par une *lampe de quartz à vapeurs de mercure* (« Höhensonne » HANAU) émettant surtout des rayons violets et ultra-violets. En raison de la forte chaleur dégagée par la lampe, j'ai utilisé un ventilateur électrique grâce auquel la température de la plaque de cire a pu être maintenue à 24°.

La *distance* entre la lampe et l'objet était invariablement de 30 centimètres, ce qui représente la meilleure condition permettant d'obtenir une action certaine sans échauffement. Dans le but d'avoir une source d'ultra-violet régulière, j'avais l'habitude de mettre la lampe en marche au moins 20 minutes avant l'irradiation. L'*intensité* de la source lumineuse et la distance étant constantes, je n'ai eu qu'à faire varier la *durée* de l'exposition.

Voici quelques indications sur la *technique histologique* que j'ai utilisée: la fixation des œufs a été pratiquée à chaud dans le *liquide de Petrunkevitch*, ou dans un simple mélange d'*alcool-formol-acide-acétique*; à froid dans le *liquide de Duboscq et Brazil*. Le chorion de l'œuf est absolument imperméable aux fixateurs et aux colorants: j'ai maintenu des œufs pendant plus d'une heure dans le liquide de Duboscq sans que cela ait empêché un développement ultérieur. Il est donc indispensable de faciliter la pénétration des liquides par une *piqûre* qui perce le chorion sans trop endommager le contenu de l'œuf. Les *préparations in toto* des œufs ont été colorées au *carmin aluné*, les coupes à l'*hématoxyline ferrique*.

Pour les *gonades* normales et castrées j'ai procédé comme suit:

Autopsie des mouches dans le liquide de Ringer; dissection et extirpation de l'appareil génital en son entier.

Fixation

- a) dans le *liquide de Duboscq et Brazil* pour les *ovaires*, pendant trois jours. S'il s'agit d'ovaires normaux mûrs il est bon de pratiquer une petite incision ou une piqûre de manière à faciliter la pénétration des liquides à l'intérieur des tubes ovariens.
- b) Dans le *liquide de Carothers* pour les *testicules*, pendant un à deux jours. Vers la fin de la fixation on peut commencer à ajouter progressivement de petites quantités d'alcool.

Les dessins ont été faits à la chambre claire après fixation et complétés par l'observation sur le vivant.

L'inclusion dans la paraffine a été pratiquée après passage dans l'essence de cèdre ou dans le *chloroforme*; les deux méthodes donnent de bons résultats.

Les coupes ont une épaisseur de 5 à 10 μ selon les objets; le collage a été réalisé de préférence à la *gélatine*.

Les colorations ont été faites principalement à l'*hématoxyline de Heidenhain* avec différenciation à l'alun de fer ou de préférence à l'alcool acide.

J'ai essayé d'autres combinaisons telles que le trichromique de Prenant, l'hémalun-picro-indigo-carmin etc. sans obtenir des résultats nettement supérieurs.

CHAPITRE V.—EFFETS DESTRUCTEURS DES RAYONS ULTRA-VIOLETS SUR LES ŒUFS EXPOSÉS.

L'emploi des rayons ultra-violets, pour la destruction des initiales sexuelles dans l'œuf de *Drosophile*, a, sur les procédés mécaniques (piqûre, ligature, etc.), l'avantage d'éviter toute lésion du chorion, ce qui est très important au point de vue du développement ultérieur.

Les rayons ultra-violets ont été déjà utilisés en mécanique embryonnaire où la méthode de radioponcture, imaginée par TSCHACHOTIN, a trouvé de nombreuses applications.

Plusieurs auteurs: STEVENS (1909), SCHLEIP (1923), RUPPERT (1924) et SEIDE (1925) ont irradié partiellement ou totalement

des œufs d'*Ascaris*. Ils appellent « dose léthale » celle qui suffit pour arrêter immédiatement et définitivement le développement. La *sensibilité* des œufs vis-à-vis des rayons n'est pas la même à chaque stade de la vie embryonnaire. D'une façon générale, on peut dire que plus l'embryon est avancé, plus sa sensibilité devient grande et, par conséquent, moins la dose léthale est forte. J'ai remarqué chez la *Drosophile* des faits semblables.

J'ai soumis à l'action des rayons 7 lots comportant chacun 20 œufs et correspondant à 7 stades différents du développement. La dose fut invariablement de 2 min. (30 cm. de distance) et les œufs furent exposés en entier.

Les résultats de l'irradiation ont été les suivants :

1^{er} lot = stade blastème (tout de suite après la ponte).

Sur 20 œufs exposés	{	13 n'éclosent pas 7 larves éclosent, dont 3 meurent; 4 donnent des mouches viables
---------------------	---	---

2^{me} lot = stade blastoderme, 2 h. $\frac{1}{2}$ après la ponte.

Sur 20 œufs exposés	{	18 n'éclosent pas 2 larves éclosent et meurent
---------------------	---	---

3^{me} lot = 4 h. après la ponte

4^{me} lot = 6 h. » » »

5^{me} lot = 8 h. » » »

(début de l'organogenèse)

6^{me} lot = 10 h. après la ponte

7^{me} lot = 12 h. » » »

}	aucune éclosion
---	-----------------

Lot témoin: 20 œufs non exposés = tous éclosent.

On voit que les jeunes stades sont moins sensibles que les embryons plus avancés.

Les auteurs précités ont observé, en outre, que si la sensibilité change progressivement au cours du développement, elle se modifie aussi temporairement au cours de chaque *mitose*: la résistance des cellules au repos ou en prophase est moins grande que pendant la période allant de la métaphase à la télophase.

Par des essais d'irradiation de stades jeunes, suivis de centrifugation, RUPPERT a pu montrer que l'ultra-violet provoque un changement de la *viscosité* du protoplasme qui peut même aller jusqu'à la *coagulation* complète, c'est-à-dire entraîner la mort.

Des doses qui sont trop faibles pour être léthales provoquent souvent un *développement anormal* (SCHLEIP).

Après irradiation sélective de parties *protoplasmiques* d'un blastomère, on observe un comportement très anormal de la chromatine du *noyau*, qui ne tarde pas à dégénérer, ce qui démontre le fait très important que l'action nocive peut se transmettre par l'intermédiaire du protoplasme au noyau (SCHLEIP).

En utilisant ces moyens, il est de toute importance de tenir compte de l'intensité de la source lumineuse, ainsi que de l'objet irradié. La lampe à mercure « Höhensonne » que j'ai employée ou une lampe Uviol ont des intensités relativement faibles; l'effet qu'on obtiendra sera inférieur à celui que peut donner la méthode de TSCHACHOTIN et nécessitera par conséquent des durées plus longues. Cette dernière méthode présente, en outre, l'avantage de permettre de travailler avec des longueurs d'ondes connues, car, chaque région du spectre ultra-violet n'ayant pas la même action, il y a probablement des zones presque inefficaces. En ce qui concerne l'objet irradié lui-même, il n'est pas certain que l'action soit identique que l'on expose un œuf d'Oursin, un œuf d'*Ascaris* ou un œuf de *Drosophile*. L'épaisseur de la membrane, le milieu dans lequel vit l'œuf, son état de segmentation et de détermination, etc. sont autant de facteurs, dont il faut tenir compte; il est donc nécessaire d'adapter le mode d'irradiation à chaque nouvel objet, de déterminer les doses qui sont à utiliser, etc....

C'est à cela que je me suis appliqué dès le début de mes recherches; les chiffres que je viens de donner au sujet de la sensibilité des œufs de *Drosophile* montrent déjà que la dose léthale (c'est-à-dire celle qui arrête le développement) aux stades blastème et blastoderme, doit être supérieure à 2 minutes (voir plus haut 1^{er} et 2^{me} lots). D'après cela, il semble certain que des doses fortes de 10, 15, 20 et 30 minutes exerceront une action léthale, non seulement pour l'œuf exposé en entier, mais aussi en ce qui concerne la destruction localisée au pôle postérieur. Cette manière de voir a été confirmée par les résultats expérimentaux que j'exposerai plus loin, mais aussi plus directement par l'examen histologique d'œufs fixés quelque temps après l'irradiation. Contrairement à ce qu'on aurait pu supposer, les résultats sont à tous égards inchangés, que l'on emploie des durées de 10 ou de 30 minutes. *L'action destructive s'exerce donc d'une façon caractéristique dès que la dose a franchi un certain seuil.*

Au cours de mes premiers essais, j'ai remarqué que les résultats étaient moins satisfaisants lorsque j'agissais sur le blastoderme constitué que lorsque j'exposais aux rayons les œufs encore au stade blastème. Cela revient à dire qu'il est plus difficile de supprimer les cellules polaires une fois formées que d'empêcher leur formation. Pour approfondir cette question, étudions, par la méthode histologique, ce qui se passe au pôle postérieur d'œufs irradiés pendant 10 à 30 minutes au stade blastème, puis au stade blastoderme.

A. Exposition au stade blastème.

Sur 20 à 25 œufs, il y en a toujours quelques-uns qui se trouvent à des stades plus avancés; ils continuent après l'irradiation à se développer, mais toujours dans un sens anormal et donnent par la suite des larves abortives, pour la plupart incapables d'éclore. Si toutefois l'éclosion a lieu, les larves ne sont pas viables et j'ai souvent pu observer chez elles des défauts internes plus ou moins graves portant sur le système trachéen, l'intestin, la musculature, etc.; fréquemment aussi, les mues sont irrégulières ou ne se font pas, les mouvements sont anormalement ralentis.

Grâce à ma méthode de choix des œufs, la majorité d'entre eux se trouvent cependant au stade voulu. L'irradiation porte alors exclusivement sur le blastème non cellularisé du pôle postérieur. Il est impossible de dire quelle est la nature physico-chimique de la modification produite; je me bornerai donc à constater son effet qui se manifeste au moment de l'arrivée des noyaux de segmentation à la périphérie. Dès que ceux-ci ont pénétré dans la zone touchée par les rayons, ils cessent d'avoir leur aspect clair de gros noyaux arrondis; on les discerne moins facilement et leur chromatine montre des signes évidents de dégénérescence (Pl. 10 *a*). Cet état reste stationnaire pendant que dans le voisinage et sur toute la périphérie de l'œuf (protégé par l'écran !) se constitue un blastoderme typique. Nous savons que, lorsque dans le cas normal l'amas des cellules germinales s'est individualisé, le blastoderme s'étend secondairement de façon à refermer l'œuf en tapissant la région sous-jacente (Pl. 10 *e*). Une chose analogue se passe alors dans les œufs irradiés; toutefois l'isolement des cellules polaires ne se fait plus activement; le plasma germinal est poussé en dehors

passivement par la couche blastodermique qui se ferme en-dessous. Il s'agit donc d'une simple *expulsion* de la zone malade, ainsi que cela a été observé également par REITH (1925), après des brûlures localisées de l'œuf de *Musca*. Cette masse protoplasmique rejetée est d'abord indivise; elle contient bien quelques noyaux, mais qui ne se multiplient pas et subissent visiblement une dégénérescence ultérieure (Pl. 10 *b*). A un stade un peu plus avancé, on rencontre un blastoderme parfaitement normal recouvrant toute la surface de l'œuf, et, en dehors du pôle postérieur, une masse protoplasmique en complète désagrégation représentant le germe expulsé (Pl. 10 *c*). Le développement ultérieur, à savoir la formation du mésoderme et de l'endoderme, l'invagination amniotique, etc., se poursuivent normalement, mais sans la participation des cellules polaires.

La dégénérescence des noyaux, qui ont pénétré dans le protoplasme irradié et « malade », confirme ce fait très général que la substance nucléaire dépend, dans une large mesure, du milieu plasmatique qui l'entoure; il n'est pas possible qu'une altération plus ou moins grave du protoplasme ne retentisse pas d'une façon ou d'une autre sur le noyau. L'observation que SCHLEIP a faite sur l'œuf d'*Ascaris* et que j'ai relatée plus haut, trouve donc son pendant dans le cas de la Drosophile. Au point de vue des phénomènes de détermination, les résultats montrent que c'est bien la constitution de l'ooplasme dans la zone polaire postérieure qui provoque la spécialisation des cellules germinales: ce cytoplasme polaire ainsi déterminé est irremplaçable lorsqu'on l'a détruit électivement. Les rayons ont donc supprimé un territoire embryonnaire prédéterminé, avant même que les éléments cellulaires aient eu le temps de s'y constituer.

Ces cas de castration typiques sont relativement rares dans mes préparations; ils s'observent dans environ 2 à 5 œufs sur les 20 exposés de chaque série. Cette proportion correspond aux chiffres que m'a fournis l'examen des gonades; en effet, les castrats adultes sont rares aussi et je n'en ai jamais trouvé plus de 6 par lots de 20 œufs exposés. Cela provient, comme je l'ai déjà mentionné (p. 224), de la difficulté matérielle que l'on éprouve à n'exposer réellement que la calotte germinale sans empiéter sur le territoire blastémique voisin. L'examen histologique des œufs exposés montre, en effet, que sur 20 œufs on peut en compter au moins 10 chez lesquels

l'effet destructeur s'est étendu à divers degrés au-delà de la calotte polaire et provoque de fortes désorganisations locales. Les noyaux, affectés d'une dégénérescence chromatique typique, s'accumulent dans ces zones irradiées sans pouvoir former le blastoderme. Les stades ultérieurs montrent que, dans ces cas, le développement avance lentement et devient très anormal. Peut-être des lésions blastémiques relativement faibles permettent-elles parfois la formation de larves défectueuses, destinées à périr, mais je ne possède pas d'observations précises sur ce point. Cette question mériterait cependant d'être reprise. Des destructions méthodiques de petites régions blastémiques, combinées avec l'étude des déficiences provoquées chez la larve ou l'imago, pourraient nous renseigner sur les localisations germinales du blastème. J'ai déjà publié quelques observations qui s'y rapportent (GEIGY 1927) et me propose d'approfondir ultérieurement ce problème.

Les mêmes difficultés matérielles, qui entraînent souvent une irradiation trop étendue, font que certains œufs sont, par contre, entièrement cachés par l'écran et échappent à l'action des rayons. En réglant l'appareil d'exposition sous le contrôle du binoculaire au début de chaque expérience, je me suis toujours efforcé de remédier à cette déficience, mais il n'est guère possible de l'éviter complètement: il y aura presque toujours 2 à 4 œufs qui échapperont à l'action des rayons; s'ils sont plus nombreux dans mes premières séries, cela provient de ce que le contrôle ne fut pas assez sévère au début de mes recherches. L'examen d'œufs exposés et fixés permet de retrouver en assez petit nombre (moyenne 4 sur 20) ceux d'entre eux qui n'ont pas été touchés par l'irradiation: ils présentent alors un développement parfaitement normal. Ces œufs non irradiés donnent naissance aux quelques mouches normales non castrées que l'on rencontre avec une assez grande régularité dans chaque série.

On doit donc, en résumé, s'attendre à obtenir, dans chaque expérience, 3 catégories de résultats: des mouches castrées, des mouches normales et des développements abortifs.

B. Exposition au stade blastoderme.

Les résultats obtenus par l'irradiation des œufs au stade blastoderme sont moins satisfaisants à deux points de vue: premièrement,

parce que la mortalité des œufs y est très élevée et presque toujours plus grande que dans le cas du stade blastème; deuxièmement parce qu'il est rare que l'on obtienne une castration totale, alors que l'on voit apparaître, par contre, des mouches présentant une *castration unilatérale*. Voici quelques chiffres comparatifs qui font mieux ressortir ces deux points:

Chiffres des séries	Nombre des œufs irradiés	Nombre des larves écloses	Nombre des mouches écloses	Nombre des castrats sur le total des mouches écloses
<i>A. Blastème.</i>				
S. 27 . . .	20	11	10	3 castrations totales 1 castration unilatérale
S. 30. a) . .	25	13	4	4 castrations totales
A/S. III. a) .	12	6	6	4 castrations totales
A/S. IV. a) .	25	11	10	5 castrations totales
<i>B. Blastoderme.</i>				
S. 29 . . .	25	15	2	1 castration unilatérale
S. 30. b) . .	25	18	6	3 castrations unilatérales
B/S. I. a) . .	15	12	4	1 castration unilatérale
B/S. III. a) .	25	11	aucune	
B/S. IV. a) .	35	7	1	0
B/S. V. a) .	25	2	aucune	
<i>C. Témoins.</i>				
Témoins B/S. IV. a) .	33	32	28	0
Témoins A/S. I. b) .	10	10	9	0
Témoins A/S. III. b) .	20	17	17	0

D'où provient la forte mortalité des œufs exposés au stade blastoderme ?

En parlant de la sensibilité des œufs exposés en entier, j'ai déjà fait remarquer que les stades âgés sont moins résistants que les stades jeunes et qu'il y a une différence assez nette à ce point de vue entre le blastoderme et le blastème (voir p. 226, 1^{er} et 2^{me} lot). Il semble donc que les lésions du blastoderme aient des conséquences plus graves pour le développement de l'œuf que celles du blastème.

L'examen histologique d'œufs irradiés au stade blastoderme, par exposition du pôle postérieur, montre des faits assez comparables à ceux qui ont été relatés précédemment en ce qui concerne le stade blastème: d'une part, les œufs trop avancés au moment de l'exposition se développent dans un sens anormal; d'autre part, il y a souvent quelques œufs « non touchés » qui évoluent normalement. Par contre, dans la plupart des œufs, on observe que la dégénérescence des éléments polaires est presque toujours accompagnée d'une désorganisation du blastoderme basal: les noyaux blastodermiques qui ont d'habitude une forme allongée, sont devenus petits, arrondis, vésiculeux et ont souvent perdu toute trace de chromatine colorable; en outre, les limites cellulaires n'apparaissent pas et le protoplasme s'épaissit dans cette région. Les cellules polaires elles-mêmes ne forment plus un amas régulier; on les trouve accolées çà et là à la surface du pôle postérieur où elles paraissent subir une sorte de désagrégation.

Comment comprendre que, dans les cas d'irradiation au stade blastoderme, les lésions soient plus étendues que lorsque les œufs sont exposés au stade blastème ? Dans les deux cas il est très rare que l'irradiation soit juste limitée à la région des cellules polaires sans empiéter plus ou moins sur le blastème ou le blastoderme adjacents. Toutefois, il semble probable que lorsque la lésion porte sur le blastème non cellularisé, les possibilités de régulation et de réparation sont plus étendues que lorsque les cellules blastodermiques sont déjà constituées. La moindre extension de l'action destructive, en dehors du champ polaire, provoque alors une désorganisation qui est fatale, parce qu'elle n'est plus réparable. Elle persiste et entrave gravement le développement ultérieur et notamment rend impossible une invagination amniotique normale.

Ces faits cadreraient avec l'idée qu'il persiste au début un pouvoir régulateur, ou plutôt « réparateur », de faible envergure, comme REITH (1925) l'a admis pour le blastème de *Musca*. Sans doute, à ce stade, les localisations germinales sont déjà établies en partie, mais n'ont encore que la valeur d'une sorte de « prédétermination » générale (voir aussi p. 250) qui ne deviendrait définitive qu'après l'arrivée des noyaux et la cellularisation.

Comment comprendre maintenant que l'irradiation au stade blastoderme n'ait fait apparaître que *des castrations unilatérales* ?

Ce genre de castration est, de plus, assez rare. La série S. 30 b)

(voir tableau p. 231) présente un nombre maximum de trois qui n'a été atteint qu'une fois. Dans la règle, il n'y a qu'une à deux castrations unilatérales par série. Cela explique pourquoi il a été extrêmement difficile de savoir ce qui s'était passé dans les œufs irradiés et fixés en vue d'un examen histologique. J'ai cependant rencontré deux œufs, exposés au stade blastoderme, qui avaient un aspect normal, sauf que l'amas des cellules polaires était plus petit et plus condensé que d'habitude (comparer Pl. 10 *d* avec *e*). Les aires protoplasmiques enveloppant chaque noyau paraissaient aussi plus compactes. L'action de l'ultra-violet à faibles doses sur la *viscosité* du protoplasme ayant été démontrée d'une façon indiscutable par RUPPERT (1924), on peut, dès lors, se demander, si l'on ne se trouve pas en face d'un phénomène de ce genre: les cellules germinales constituées, dont certaines ont peut être été tuées, adhèreraient les unes aux autres par suite de l'accroissement de leur viscosité cytoplasmique. Lors de leur arrivée au fond de l'invagination amniotique, elles seraient alors incapables de se séparer en deux lots et passeraient en bloc dans l'embryon pour y former, soit à droite, soit à gauche, une ébauche génitale unique capable d'évoluer d'une façon plus ou moins complète. Bien entendu, je ne formule là que l'hypothèse qui m'a paru la plus vraisemblable.

Pour donner plus de précision aux observations et aux interprétations qui précèdent, je résumerai à l'aide de deux exemples typiques les résultats tels que j'ai pu les enregistrer après exposition du blastème et du blastoderme:

a) *Exposition au stade blastème.*

Exemple: tableau p. 231, A/S.IV.a).

Sur 25 œufs, 11 ont donné des larves.

Les 14 œufs non éclos appartiennent, soit à la catégorie des œufs trop avancés au moment de l'exposition, soit à celle des œufs qui ont été trop fortement lésés en dehors de la région polaire; dans les deux cas, le développement ultérieur est devenu défectueux et anormal.

Sur les 11 larves écloses, une périt avant d'atteindre la nymphose. Ses mouvements étaient très ralentis, ce qui montre que l'œuf avait été trop profondément atteint; la larve mourut de quelque défectuosité dont la nature n'a pas été précisée.

Sur les 10 mouches écloses, 5 sont d'apparence normale, mais présentent une castration totale; elles doivent correspondre à des œufs dans lesquels la destruction est restée limitée à la calotte polaire.

Les cinq autres sont entièrement normales et proviennent vraisemblablement d'œufs n'ayant pas été atteints par les rayons.

b) *Exposition au stade blastoderme.*

Exemple: tableau p. 231, S. 29.

Sur 25 œufs exposés, 15 ont donné des larves. Les 10 œufs abortifs doivent correspondre à des lésions trop étendues. Sur les 15 larves écloses, 13 meurent avant la nymphose à la suite d'une défectuosité plus ou moins grave n'ayant pas empêché l'éclosion, mais n'ayant pas permis le développement ultérieur. Seules deux imagos sont obtenues; l'une est normale et doit provenir d'un œuf «non touché». L'autre est caractérisée par une castration unilatérale.¹

En résumé, l'étude histologique d'œufs irradiés et fixés permet de mieux faire comprendre les résultats expérimentaux que j'exposerai dans le chapitre suivant. L'œuf est, au stade blastème, moins sensible que lorsque le blastoderme cellulaire est déjà constitué, ce qui paraît en rapport avec la diminution du pouvoir réparateur au cours du développement.

Lors des expositions au stade blastème, on observe soit des mouches d'apparence normale, mais totalement castrées (destruction du pôle germinal sans ou avec lésions réparables du voisinage), soit des mouches entièrement normales (œufs non exposés ou insuffisamment exposés aux rayons), soit enfin des développements abortifs (destruction étendue, dépassant largement la calotte polaire).

Dans le cas des expositions au stade blastoderme, on rencontre soit des mouches d'apparence normale, mais castrées d'un côté (blocage des éléments germinaux survivants, passant probablement tous ensemble d'un même côté), soit des mouches entièrement

¹ Ces chiffres doivent subir une certaine correction en ce qui concerne le nombre des œufs et des larves incapables d'évoluer. Les séries témoins (B/S. IV a, A/S. I b et A/S. III b, tableau page 231) montrent en effet que, même dans des lots non irradiés élevés parallèlement, et provenant des mêmes pontes, un certain nombre d'œufs et de larves ne peuvent se développer. Toutefois ce nombre est généralement assez restreint.

normales (œufs non exposés ou insuffisamment exposés), soit des développements abortifs très fréquents (lésions plus ou moins étendues et non réparables, dépassant l'aire des cellules polaires).

Il est certain, que dans les cas favorables, le territoire germinale peut être électivement atteint, ce qui entraîne des cas de castration ne se rencontrant pratiquement jamais dans les élevages témoins. Cela ne laisse aucun doute sur la relation existant entre l'artifice expérimental utilisé et les transformations observées dans les glandes génitales des imagos. Notons enfin que ces expériences permettent, pour la première fois, d'obtenir des mouches adultes castrées, grâce à l'action élective des rayons ultra-violets sur l'ébauche génitale primordiale.

CHAPITRE VI. — RETENTISSEMENT DE LA CASTRATION SUR LA MORPHOLOGIE DES APPAREILS GÉNITAUX.

Nous avons vu que l'irradiation des œufs pouvait conduire à la production de castrats unilatéraux et bilatéraux.

Rien dans l'aspect extérieur ni dans le comportement ne permet de distinguer ces castrats des mouches normales que l'on obtient également dans les séries exposées. Le seul trait commun qui distingue ces deux catégories des mouches écloses dans les lots témoins, non irradiés, consiste dans un *retard* à l'éclosion, qui est d'habitude d'un ou deux jours, mais est parfois plus considérable (voir deuxième partie, p. 266).

Le seul moyen de dépister les individus castrés est d'essayer pendant quelque temps leur aptitude à la reproduction. Dans ce but, j'ai réuni les individus éclos, par couples, au hasard, et les ai suivis pendant 3 à 4 jours.

Si le couple donne une descendance, il peut s'agir soit de deux individus normaux, soit d'une mouche normale accouplée avec un castrat unilatéral. Dans le cas, au contraire, où l'on n'obtient aucune descendance, le couple peut être formé de deux castrats, ou d'un mâle castré et d'une femelle normale, ou enfin d'un mâle normal et d'une femelle castrée.

Cette épreuve de la descendance n'a donc qu'une valeur relative. J'ai néanmoins généralement attendu 4 jours avant d'autopsier les animaux, afin d'avoir des données d'ordre physiologique à mettre en parallèle avec les résultats de l'examen morphologique.

Voici maintenant l'aspect que présentent à la dissection les appareils génitaux des *Drosophiles* castrées par les rayons ultra-violet.

a) *Castration totale chez le mâle.*

Les figures *a* et *c* (Pl. 11) ainsi que les figures schématiques 9, 10, 11 dans le texte, permettent de comparer l'état des appareils génitaux des mâles castrés avec ce que l'on observe dans un mâle normal. La particularité qui frappe immédiatement est la remar-

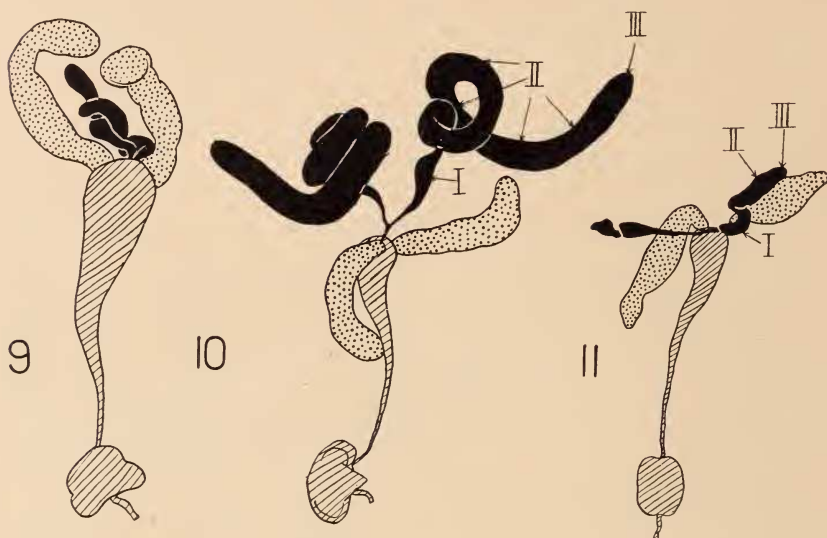


FIG. 9, 10, 11.

Appareils génitaux mâles, permettant de comparer les testicules réduits de 2 castrats (9 et 11) à ceux d'un témoin (10).

quable réduction de dimension des testicules. Au lieu d'être développés sous la forme de tubes longs et épais, enroulés en spirale, ils se présentent sous l'aspect de deux tubes grêles, tordus et repliés sur eux-mêmes, comme s'il y avait eu un début d'enroulement. La couleur jaune de leur paroi est plus foncé que normalement. Ces testicules débouchent dans des spermiductes normaux, d'abord dilatés en ampoule et allant en s'amincissant jusqu'à leur point de jonction, pour aboutir dans le canal déférent. Rien dans les dimensions et dans la structure de ces spermiductes n'est atypique,

sauf que leurs ampoules sont transparentes au lieu d'être remplies par le sperme comme dans les mâles normaux. Le reste de l'appareil génital, canal déférent, glandes accessoires, pompe et canal éjacu-

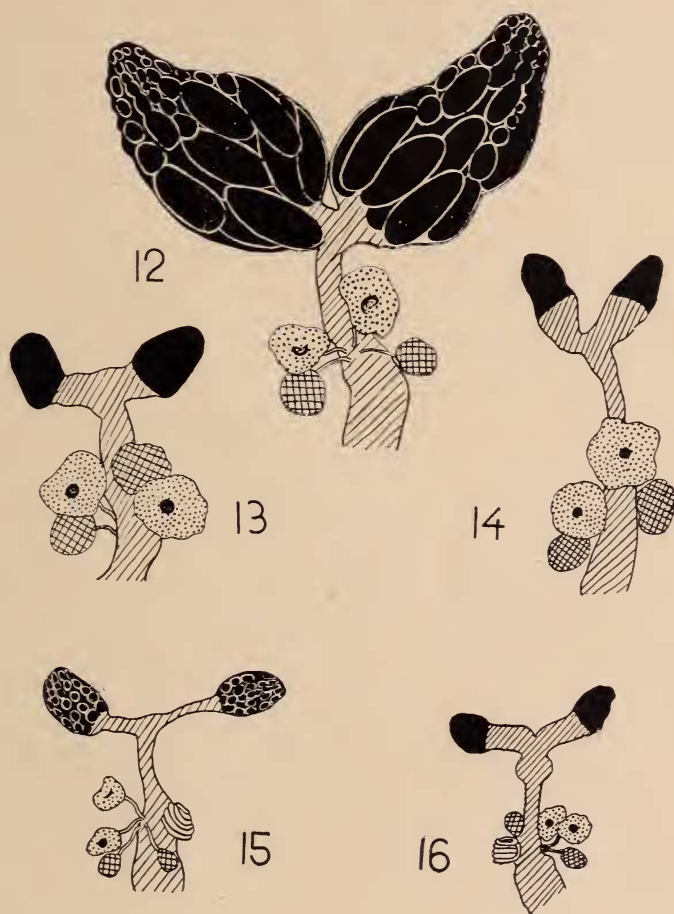


FIG. 12-16.

Appareils génitaux femelles.

- 12 = d'un témoin, 3 à 4 jours après l'éclosion
 13 & 14 = de deux castrats, 3 à 4 jours après l'éclosion
 15 = d'un témoin qui vient d'éclore
 16 = d'un castrat qui vient d'éclore.

lateur, est entièrement normal. Les glandes accessoires produisent leur sécrétion caractéristique et manifestent, lors de l'autopsie,

des mouvements semblables à ceux que l'on observe chez les mâles normaux. La pompe éjaculatrice se contracte de même activement.

b) *Castration totale chez la femelle.*

Une comparaison des figures *d* et *f* (Pl. 11) ainsi que des figures 12, 13, 14 dans le texte, nous amène à des conclusions identiques pour l'appareil femelle. Là aussi, la castration porte exclusivement sur les ovaires et s'exprime par une réduction de dimension encore plus marquée que chez le mâle. Les ovaires stériles coiffent l'extrémité des oviductes pairs en formant deux petites masses coniques. Les trachées sont beaucoup plus denses que dans un ovaire normal, mais cela est dû à ce qu'elles restent serrées les unes contre les autres en raison du faible développement de l'ovaire castré. Comme dans l'ovaire normal, on remarque parfois à l'autopsie des contractions caractéristiques de l'extrémité, mouvements qui normalement sont probablement en rapport avec l'expulsion des œufs dans l'oviducte; ce réflexe, ici sans signification fonctionnelle, est donc conservé. La surface des glandes stériles est plus ou moins lisse; vues par transparence, elles sont opaques et semblent remplies par une masse cellulaire compacte, dans laquelle on ne peut distinguer aucune structure. Le reste de l'appareil génital est complet et parfaitement normal. Les courts oviductes pairs débouchent dans l'oviducte impair, dont la partie inférieure se dilate pour former l'utérus. Ce dernier reçoit à la limite supérieure les canalicules des deux spermatèques dorsales et des parovaires, tandis que l'on observe, de l'autre côté, le petit peloton du receptacle ventral. La paroi extérieure de l'utérus des castrats porte aussi quelquefois les papilles dont j'ai déjà mentionné l'existence occasionnelle dans les femelles normales.

J'ai représenté schématiquement, dans la figure 15, un appareil génital d'une femelle témoin tel qu'il se présente à l'éclosion. Les ovaires sont encore petits, quoiqu'on y distingue déjà nettement les tubes ovariens en évolution. Les parovaires et les receptacles, de même, n'ont pas encore atteint leur taille définitive. La figure 16 représente, à titre de comparaison, l'appareil génital d'une femelle castrée de même âge. Les parovaires et les receptacles sont, comme dans le cas précédent, encore de petite taille, mais il est surtout intéressant de noter que les ovaires, quoique dépourvus de la

lignée germinale et ne laissant reconnaître par transparence aucune structure, sont également plus petits que chez des castrats de 3 à 4 jours (fig. 13 et fig. 14, dessinées à la même échelle). La masse des ovaires stériles s'accroît donc — évidemment pas dans une mesure aussi considérable que l'ovaire normal, gonflé par les œufs mûrs, — mais suffisamment pour indiquer que les tissus qui les constituent se développent suivant le même rythme que ceux d'un ovaire normal.

En résumé :

1° *La castration embryonnaire retient exclusivement sur les gonades et ne modifie en aucune façon le reste de l'appareil génital.* Cela ne fait d'ailleurs que préciser par des résultats expérimentaux nos connaissances concernant le mode de formation des voies génitales et de leurs annexes. Nous savons qu'ils proviennent en majeure partie de disques imaginaires spéciaux, situés sur la face ventrale des derniers segments. Les rayons n'ont pas pu toucher ces formations ectodermiques tout à fait indépendantes et qui n'entrent en contact avec les jeunes gonades que vers la fin de la nymphose. De plus, l'organisation des castrats montre qu'il y a, entre les gonades et le reste de l'appareil génital, non seulement une indépendance formative, mais aussi plus tard une indépendance physiologique complète (hormonique ou nerveuse). En effet, que les gonades soient fonctionnelles ou stériles, les glandes annexes de l'appareil génital (glandes prostatiques mâles et parovaires femelles) présentent invariablement le même développement et la même activité, bien qu'elles n'aient, chez les castrats, aucune fonction à remplir.

2° *Bien que les gonades castrées soient réduites d'une façon considérable, elles ne sont jamais purement et simplement supprimées.* Il n'arrive jamais, en effet, que les spermiductes et les oviductes se terminent simplement en cul-de-sacs à leurs extrémités. Cela ne doit cependant pas nous étonner, puisque, nous l'avons vu, la gonade de la Drosophile a toujours une double origine à la fois germinale (polaire) et mésodermique. Les rayons n'ont pu atteindre, au pôle postérieur des œufs, que le territoire strictement germinal.

L'examen histologique des gonades castrées permettra de préciser la nature des éléments qui participent à leur formation.

c) Castration unilatérale mâle et femelle.

Dans la castration unilatérale, qu'il s'agisse d'un mâle ou d'une femelle, l'appareil génital annexe ne présente jamais rien d'atypique. Je n'aurai donc pas à y revenir et m'occuperai exclusivement des gonades elles-mêmes. Les figures *b* et *e* (Pl. 11) montrent que, dans ces cas, l'une des gonades est bien développée, tandis que l'autre présente un degré de réduction aussi considérable que dans le cas de castration totale. La ressemblance morphologique entre les deux types de castration est évidente; elle s'étend d'ailleurs aussi à la structure histologique. Lorsque j'ai observé les premiers cas de castration unilatérale, j'ai cru remarquer que la gonade normale était plus grande que d'habitude, ce qui m'avait fait penser à une hypertrophie compensatrice, dont la figure 21 représenterait un cas typique. Mais, bien que la castration unilatérale soit assez rare, j'en ai obtenu un nombre suffisant pour en faire une étude plus approfondie. J'ai représenté presque tous les cas obtenus (fig. *b* et *e*, Pl. 11, et fig. 17 à 21 dans le texte).

L'examen attentif de ces figures montre qu'il n'y a pas d'hypertrophie compensatrice régulière; par contre on peut relever des détails importants:

1° La castration n'est certainement pas limitée toujours à un même côté, mais s'observe au hasard, soit à droite, soit à gauche (fig. 19 et 20).

2° Si dans les figures 21 et *b* (Pl. 11) l'hypertrophie est plus ou moins évidente, elle ne l'est pas du tout dans les figures 19 et *e* (Pl. 11) où la gonade a une taille à peu près normale, et encore moins dans les figures 17 et 20 où l'on constate au contraire une réduction très visible des dimensions.

Il est certain que, dans tous les cas, aussi bien chez les mâles que chez les femelles, ces gonades hypertrophiées ou réduites sont susceptibles d'être fonctionnelles. J'ai en effet presque toujours obtenu une descendance; de plus l'examen histologique montre l'existence d'une spermatogenèse ou d'une ovogenèse typique.

Par contre, il y a d'indiscutables fluctuations dans la dimension de la gonade non castrée: ou bien la quantité des éléments prenant part à l'ovogenèse ou à la spermatogenèse est grande, voir exagérément grande, et alors l'ovaire ou le tube testiculaire se dilatent

autre mesure; ou bien la quantité est réduite d'une façon atypique, la taille reste alors inférieure à la normale.

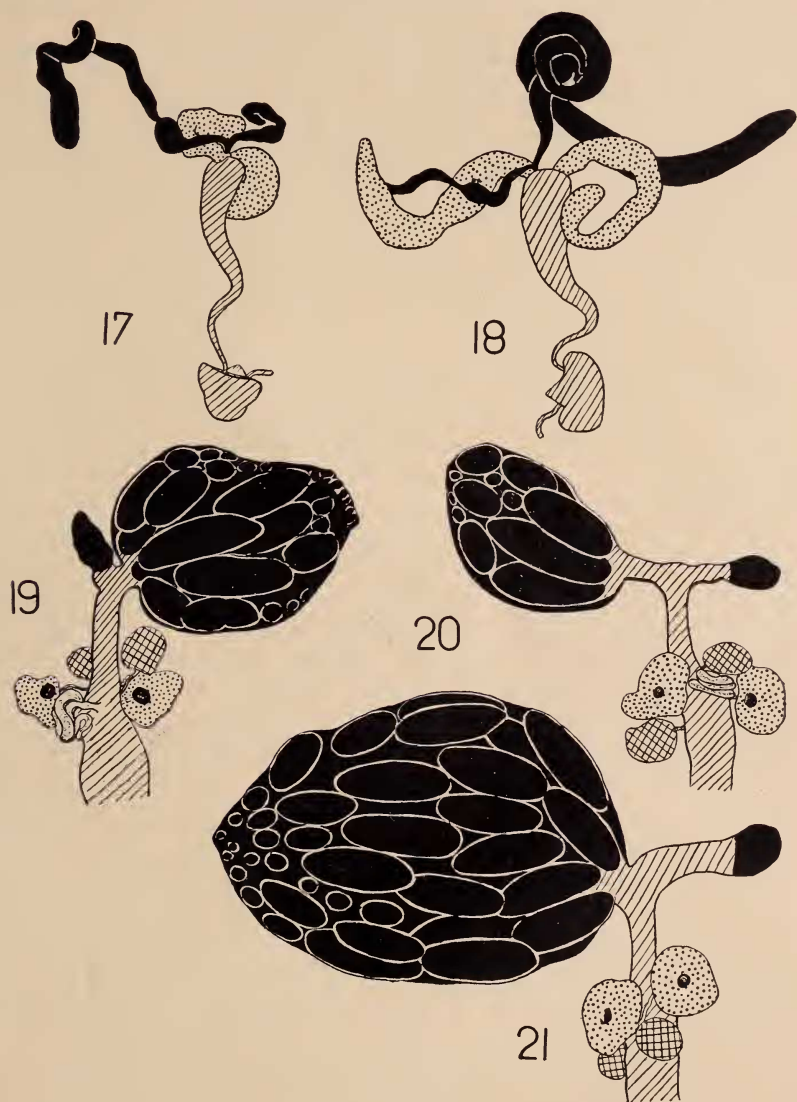


FIG. 17-21.

Quelques cas de castration unilatérale mâle et femelle.

Cette variabilité dans la dimension des gonades trouve peut être son explication dans l'hypothèse que j'ai formulée plus haut en

ce qui concerne la genèse de la castration unilatérale (p. 233). Si, en effet, on admet que cette anomalie résulte d'une adhérence, d'un blocage des éléments germinaux polaires, par suite d'une augmentation de la viscosité du cytoplasme, on comprend que si la totalité des cellules polaires passent d'un seul et même côté, sans avoir subi de destruction, il en résultera une augmentation de volume de l'unique gonade fonctionnelle. L'ovaire représenté à la figure 21, et dont la taille est environ deux fois plus grande que normalement, illustrerait particulièrement ce cas.

On peut, d'autre part, supposer qu'une irradiation plus forte pourrait détruire une partie des cellules germinales et amener l'agglutination de celles qui sont restées vivantes. Ce qui reste capable de se développer passant alors, en une seule masse, d'un seul côté, il en résulterait une gonade fertile, de dimensions égales ou même inférieures à celle d'une glande normale. C'est à des cas de ce genre que pourraient correspondre les figures 17, 18, 19, 20 et e, Pl. 11.

Bien entendu, je ne présente cette explication que comme une hypothèse: seule l'étude méthodique de l'évolution de la gonade, depuis le moment de l'irradiation des cellules polaires jusqu'à la constitution définitive de la glande génitale, pourrait en montrer le bien fondé.

CHAPITRE VII. — STRUCTURE HISTOLOGIQUE DES GONADES STÉRILES

a) *Le testicule stérile* (Pl. 12 a, b et c)

L'existence de testicules stériles résulte d'une triple constatation: en premier lieu, la réduction considérable de taille des testicules et la vacuité des voies déférentielles; en second lieu, le fait qu'aucun mâle totalement castré n'a laissé de descendance; enfin, *l'absence* constatée à l'examen histologique *de la lignée germinale*.

Ces testicules ne renferment en effet ni spermatogonies, ni spermatocytes, ni spermatides, ni spermatozoïdes. La structure des testicules castrés est absolument uniforme d'un cas à un autre.

Comme la figure c, Pl. 11 et les fig. 10 et 11 dans le texte le montrent très nettement, on distingue déjà extérieurement, dans chaque testicule, trois zones principales: la région des sper-

miductes, une partie moyenne et une sorte d'ampoule terminale ou apicale. Les deux dernières parties forment le tube testiculaire proprement dit et sont séparées du spermiducte par un étranglement.

1. — Le spermiducte présente histologiquement la même structure que dans le cas normal; sa paroi est tapissée par un épithélium régulier (*cellules des canaux*) qui peut cependant être un peu plus épais que d'habitude. Ce conduit s'élargit aussi, dans la direction du testicule, en une large ampoule, mais dont le lumen est complètement dépourvu de spermatozoïdes. Ceci est particulièrement frappant dans le cas d'une castration unilatérale, où l'on peut observer, côte à côte, le spermiducte normal et celui du castrat (Pl. 12, a).

2. — La zone étranglée qui conduit aux testicules proprement dits présente comme normalement un lumen très fin; mais, tandis que la couche épithéliale des canaux s'arrête généralement bientôt et ne s'étend que sur la toute première partie de la paroi testiculaire, les cellules recouvrent ici toute la portion moyenne laissant en son centre un large espace vide. Il est à noter que ces cellules, au fur et à mesure que l'on se rapproche de l'ampoule apicale, présentent une taille de plus en plus grande et pour finir paraissent presque géantes par rapport aux éléments du spermiducte. Les limites cellulaires sont généralement très visibles dans cette région, les cellules ont un caractère nettement épithélial (voir fig. c, Pl. 12). Les noyaux sont grands et clairs avec un nucléole compact qui peut prendre des formes irrégulières. Ces éléments peuvent être comparés dans une certaine mesure aux *cellules nourricières* des testicules normaux, tant par leurs grandes dimensions que par la structure du noyau. Ces éléments ne sont pas toujours régulièrement distribués le long de la paroi et peuvent être plus nombreux d'un côté que de l'autre. Quoi qu'il en soit, les cellules les plus grandes se trouvent toujours situées au voisinage de l'ampoule apicale (fig. c, Pl. 12.)

3. — Cette ampoule n'est généralement pas creusée d'une cavité, mais est remplie par une masse compacte de très petites cellules; parfois aussi le lumen continue et s'étend sur toute la largeur de cette ampoule (qui n'a aucun revêtement épithélial) sauf tout à fait à son sommet; là, on observe alors un îlot de ces mêmes petites cellules qui n'ont pas encore proliféré. Il y a une

ressemblance incontestable entre ces éléments et les petites *cellules de l'apex* que j'ai signalées dans la zone de prolifération du testicule normal (voir fig. 5).

4. La couleur du testicule castré est généralement d'un jaune plus foncé que normalement; cela se comprend car la membrane est, suivant les endroits, 2, 3 ou 4 fois plus épaisse que chez les témoins. On y rencontre fréquemment des *cellules pariétales* très hypertrophiées, occupant de vastes loges (fig. b, Pl. 12).

J'ajouterai que chez les castrats unilatéraux le testicule stérile présente régulièrement la même structure que celle que je viens de décrire pour les castrats totaux.

Voici en définitive, quelles sont les conclusions que je crois pouvoir tirer de l'examen histologique des testicules stériles:

1. Les *cellules germinales* font complètement défaut.
2. Les cellules présentes sont les suivantes:

a) L'épithélium du spermiducte qui, comme nous le savons, dérive de l'ilot mésodermique de la jeune gonade (voir p. 207), se développe normalement, mais s'étend en avant jusque vers l'ampoule terminale. Ces *cellules des canaux* ont donc une tendance à recouvrir entièrement leur substratum; s'il n'en est pas ainsi dans le testicule normal, c'est sans doute parce que la lignée germinale en évolution (dont l'importante augmentation de masse provoque l'extension du tube) exerce une action inhibitrice. Quant aux grandes cellules qui sont toujours en relation directe avec l'épithélium des canaux, mais restent parfois séparées de l'ilot apical, il faut admettre qu'elles représentent des éléments épithéliaux transformés. Elles correspondent vraisemblablement aux *cellules nourricières* du testicule normal qui, en l'absence de spermatozoïdes, gardent leur caractère épithélial et forment une assise pariétale.

b) L'ilot apical, formé de petites cellules, correspond vraisemblablement aux *cellules de l'apex* dont j'ai mentionné la présence dans la zone de prolifération du testicule normal. Ces cellules peuvent se multiplier chez les castrats comme elles le font dans le cas normal. Toutefois, en l'absence de cellules germinales, elles restent groupées sur place dans la zone apicale du testicule. Dans la gonade normale, elles se trouvent au contraire mélangées aux spermatogonies et entraînées avec

elles, lors de la multiplication des éléments germinaux, si bien qu'elles sont alors plus difficiles à reconnaître.

c) Les cellules mères de la paroi, ou *cellules pariétales*. Cette membrane qui d'habitude, par suite de l'extension du tube testiculaire, reste mince, est ici beaucoup plus réduite en longueur, mais, par contre, d'épaisseur plus considérable.

3. La destruction des cellules polaires dans l'œuf entraîne dans le testicule adulte l'absence de la lignée germinale et d'elle seule. Tous les éléments restés présents doivent donc avoir nécessairement une autre origine. Si leur masse paraît à première vue plus grande que d'habitude, il ne faut pas oublier que le testicule castré est considérablement réduit de dimension; on trouve donc réunis dans un petit espace des éléments qui sont normalement dispersés tout le long d'un organe beaucoup plus volumineux et d'ailleurs plus ou moins masqués par le développement considérable de la lignée germinale.

b) *L'ovaire stérile* (Pl. 13, c.)

L'ovaire d'un castrat de 3 jours a environ les dimensions d'un ovaire nymphal d'âge moyen, mais il est plus allongé et caractérisé par la densité des faisceaux trachéens qui y pénètrent latéralement. Tandis que dans un ovaire nymphal on peut déjà reconnaître par transparence les grandes lignes de sa structure, cela est impossible dans l'organe castré, dont la masse interne semble absolument compacte. L'étude sur coupes révèle cependant l'existence d'une structure tout à fait typique que l'on retrouve régulièrement dans tous les ovaires castrés. Pour interpréter correctement la constitution de ces ovaires stériles, il faut les comparer, non à des ovaires adultes, mais à des glandes prélevées pendant la nymphose.

On distingue dans ces ovaires toute une série de longs cordons cellulaires qui s'étendent de la pointe jusque dans la partie basale. Les cordons sont enveloppés par le tissu mésenchymateux qui caractérise les ovaires normaux, comme cela ressort de la comparaison des figures *a*, *b*, et *c*, Pl. 13. Le mésenchyme forme entre la base des cordons et le lumen de l'oviducte un tissu compact, plus développé chez les imagos âgées de 3 jours qu'au moment de l'éclosion; je n'y ai jamais rencontré les sphérules sidérophiles qui caractérisent l'écorce nymphale. Cette région est par contre particulièrement envahie par des ramifications trachéennes.

Ce sont surtout les cordons qui attirent l'attention; ils représentent sans aucun doute l'équivalent des tubes ovariens des ovaires de la période nymphale. Chaque cordon possède dans sa partie antérieure un renflement, coiffé quelquefois par une petite pile de cellules plates: le filament terminal. Vers l'arrière, ils vont en s'amincissant et se terminent par un bout arrondi dans le mésenchyme. On rencontre à l'intérieur des cordons une seule catégorie de cellules plates, empilées les unes sur les autres, et devenant de plus en plus petites dans la partie postérieure. Elles sont entièrement comparables aux *cellules épithéliales* de l'ovaire nymphal (p. 213). Parfois, elles paraissent remplir le cordon d'un bout à l'autre, même dans sa portion renflée. Mais cette disposition n'est pas générale: le renflement, coupé sagittalement, peut se présenter comme une loge dont le lumen est défini par une paroi formée de cellules plates ou cylindriques. La ressemblance avec la structure nymphale est évidente, bien qu'il y ait lieu de noter quelques différences: 1. les cordons sont plus allongés; 2. la masse des cellules plates est en conséquence plus grande; 3. il n'y a pas trace d'ovogonies à l'intérieur des chambres germinatives.

En résumé:

1° Les *cellules germinales* font complètement défaut.

2° Le *mésenchyme* est normalement conformé; il n'a cependant pas produit, comme d'habitude, de sphérules sidérophiles, ce qui semble indiquer que l'activité physiologique n'est pas la même chez le castrat.

3° La sériation des éléments en *tubes ovariens* a eu lieu comme normalement, il y a même dans chaque cordon un renflement terminal qui est sans doute l'homologue de la *chambre germinative*. Les tubes ovigères sont restés dans une sorte d'état nymphal.

4° Les cordons se composent uniquement des *cellules plates* ou *épithéliales* que nous avons déjà rencontrées dans l'ovaire nymphal. Ces dernières forment quelquefois à l'extrémité un très petit filament terminal. Appelées normalement à isoler les nids d'ovogonies et à donner les éléments de liaison entre les chambres ovulaires, elles restent inactives en l'absence de tout élément germinal et subissent une simple multiplication. Elles tapissent néanmoins la paroi du renflement et prennent un aspect qui rappelle un peu une assise folliculaire.

Ici encore, l'ovaire castré renferme tous les éléments qui constituent normalement la gonade à l'exception des cellules germinales. Celles-ci nous apparaissent de nouveau comme étant les seules éléments issus des cellules polaires.

CHAPITRE VIII. — DISCUSSION DES RÉSULTATS

La signification des cellules polaires en tant qu'initiales sexuelles reposait avant tout, jusqu'à présent, sur des observations d'ordre histologique. Cependant HEGNER (1908/11) avait déjà essayé d'établir expérimentalement, chez les Coléoptères, la valeur du cytoplasme du pôle postérieur de l'œuf et celle des cellules polaires. Opérant au stade blastoderme, HEGNER piquait le pôle postérieur des œufs à l'aide d'une aiguille chaude ou froide. Il brûlait ainsi l'amas des cellules polaires ou en déterminait l'expulsion; il a constaté alors que les embryons qui se développaient étaient dépourvus de leurs deux derniers segments abdominaux ainsi que des éléments germinaux. Ces individus n'ont jamais été viables. Mais HEGNER s'est surtout proposé de donner la preuve expérimentale que ce sont les *granules* déjà présents dans le protoplasme polaire du stade blastème (voir p. 194) qui seraient l'élément déterminateur des futures cellules dans le sens germinal. Dans ce but, il a pratiqué des piqûres du pôle postérieur au stade blastème pour faire sortir ainsi une gouttelette protoplasmique contenant les granules; les noyaux, qui sont encore au centre de l'œuf, ne sont pas touchés par cette opération. Il n'a cependant pas réussi de cette façon à éliminer les éléments germinaux, il a simplement pu constater que leur nombre avait diminué. Remplaçant la piqûre par la brûlure du pôle protoplasmique, HEGNER obtint enfin une élimination complète de ces éléments mais qui fut accompagnée de déficiences abdominales plus ou moins graves et toujours mortelles.

La question essentielle n'est pas de savoir si les granules sidérophiles du pôle postérieur jouent un rôle effectif dans la détermination des cellules germinales. J'ai déjà indiqué qu'il n'en est probablement pas ainsi. Mais il est plus important, à mon avis, de constater que cette détermination est due à une constitution spécifique du cytoplasme. De même, dans l'œuf de *Cynthia*, par exemple, les divers territoires organo-formateurs de la chorde, du

système nerveux, des muscles, de la queue, etc. présentent des pigmentations dissemblables; ce n'est cependant pas la nature du pigment qui représente l'élément déterminateur; les colorations différentes coïncident plus ou moins exactement avec les localisations germinales et les rendent reconnaissables. Les granules sidérophiles du pôle postérieur n'ont probablement pas plus d'importance.

Le fait fondamental établi par les expériences de HEGNER est que la destruction de la calotte polaire blastémique ou, plus tard, des cellules polaires, supprime dans l'embryon les cellules germinales. Par là, la filiation entre ces éléments reproducteurs et les cellules polaires se trouve établie avec certitude. Par contre, les embryons obtenus par HEGNER, mouraient précocement en raison des lésions étendues provoquées par la piqûre. Il était donc impossible de savoir ce qu'auraient pu être les imagos privées de leurs cellules germinales.

En utilisant la méthode plus précise de la destruction du territoire prospectif du germen ou des initiales sexuelles par les rayons ultra-violets, j'ai pu, au contraire, obtenir non seulement des larves mais des imagos parfaitement viables. Ce résultat inédit permet maintenant d'envisager un certain nombre de questions générales que soulève l'existence de ces castrats.

1. *La différenciation autonome du mésoderme en l'absence du germen.*

Les recherches relatives à la détermination dans l'œuf des insectes ont montré qu'il s'agissait d'un développement « en mosaïque ». Cela veut dire que, chez ces animaux, chaque partie de l'œuf est déterminée d'une façon précoce et évolue indépendamment suivant sa valeur prospective.¹ Mes expériences confirment cette notion générale dans le cas particulier de la genèse des gonades. J'ai déjà fait allusion au fait que l'appareil génital est une mosaïque de 3 catégories de cellules: « cellules polaires », « cellules mésodermiques » et « ectodermiques » (p. 215) et j'ai pu montrer expéri-

¹ Les expériences de HEGNER (1908-11), REITH (1928), ROSTAND (1927) et PAULI (1927) montrent chez les *Coléoptères* et les *Diptères*, qu'à un certain stade l'œuf est déjà déterminé et peut être considéré comme une mosaïque de territoires organo-formatifs. Les expériences de SEIDEL (1926-29) ont établi que, chez les *Libellules*, la détermination se fait à partir d'un centre situé dans le voisinage du pôle postérieur et jouant le rôle d'un organisateur.

mentalement que l'indépendance de chaque catégorie est complète et s'étend jusque dans la vie imaginaire.

Non seulement chaque organe, mais aussi chaque région de l'organisme (qu'elle soit uni- ou pluricellulaire) sont caractérisés par une autonomie parfaite. Qu'il s'agisse des ébauches de l'hypoderme, de l'intestin moyen, de l'œsophage, des pièces buccales, des trachées, ou bien seulement de la portion mésodermique de la gonade, des disques imaginaires génitaux ou de quelques cellules polaires isolées, — tous ces éléments suivent la ligne de leur destinée fixée au moment de la détermination. Mais celle-ci ne règle pas seulement les débuts du développement embryonnaire; au contraire, l'autonomie de chaque ébauche se conserve jusqu'à la vie imaginaire. De l'addition de tous ces développements indépendants résulte cependant un tout harmonieux, fonctionnel et viable.

Ce simple fait montre combien il faut être prudent lorsqu'on parle chez les insectes de l'interaction et de l'interdépendance mutuelle des tissus et des cellules. On ne peut plus admettre que ce sont les cellules polaires qui, en s'unissant avec les éléments mésodermiques, influencent ces derniers et les déterminent à participer à l'édification de la gonade. Il n'en est rien, car ces éléments sont déterminés et se développent dans le sens génital sans qu'il y ait aucune cellule polaire présente. Tout porte à croire que leur détermination était aussi précoce que celle des cellules polaires; elle existe peut être déjà à l'état potentiel dans la couche blastémique.

De plus la détermination de la partie mésodermique de la gonade, ainsi que la partie ectodermique fournissant l'appareil génital externe, n'a pas seulement lieu dans le sens de la réalisation d'un appareil génital quelconque, mais est effectuée spécialement dans le sens de la formation d'un appareil mâle ou d'un appareil femelle. En effet, le mésoderme des castrats a toujours donné une formation nettement ovarienne ou franchement testiculaire; les disques ectodermiques ont formé, d'une façon correspondante, soit des appareils femelles, soit des appareils mâles. Je n'ai jamais obtenu d'appareil génital ayant un type indifférent. Le caractère ovarien ou testiculaire s'accusait non seulement dans la *réalisation de la forme* en général, et dans la *structure intime*, mais encore s'affirmait par toute une série de particularités, telles que le rythme du développement, l'existence d'une extrémité contractile au sommet des ovaires ou le début d'enroulement esquissé par les testicules des castrats.

Si la lignée germinale n'est pas indispensable pour que les éléments mésodermiques puissent constituer une gonade à structure reconnaissable, bien que stérile, les cellules germinales doivent cependant jouer un certain rôle dans l'évolution ultérieure de la glande. En effet, les cellules nourricières des testicules et les cellules folliculaires de l'ovaire n'achèvent pas complètement leur évolution en l'absence des éléments goniaux. Le mésenchyme ne secrète pas les sphérules sidérophiles. L'ensemble des éléments mésodermiques reste dans une sorte d'état nymphal et ne peut atteindre une différenciation complète.

2. La valeur prospective des cellules polaires.

Les cellules polaires sont déterminées de manière à donner naissance exclusivement aux éléments de la spermatogenèse et de l'ovogenèse; leur valeur prospective est donc nettement fixée; l'idée de la « continuité du plasma germinatif » de WEISMANN se présente donc, chez les insectes, sous une forme moins théorique qu'on ne l'admet généralement.

Si, par contre, le cytoplasme du pôle postérieur de l'œuf représente un territoire organo-formatif, destiné à produire le germe, nous ne savons pas à quel moment se fait la détermination de ces éléments germinaux dans le sens mâle ou dans le sens femelle.

Il semble probable que la calotte polaire blastémique et même les cellules, au moment de leur formation, n'ont encore qu'une détermination assez vague, une prédétermination « dynamique » pour employer le terme de GOERTTLER (1927) qui ne serait suivie que plus tard de la détermination « matérielle ».

Etant donné ce que nous savons des relations existant entre le nombre des hétérochromosomes et le sexe chez les insectes en général, les Drosophiles en particulier, il est à peu près certain que l'orientation des cellules germinales dans le sens mâle ou dans le sens femelle ne peut s'établir qu'après l'arrivée des noyaux de segmentation dans la calotte polaire. Suivant la nature de la fécondation, ceux-ci ont en effet la formule XX ou la constitution XY. Il est même possible que ce ne soit qu'au moment où les facteurs nucléaires ont l'occasion de régler le métabolisme cellulaire, c'est-à-dire au moment où les initiales sexuelles se multiplient (ce qui a lieu

pendant que l'amas polaire se constitue), que la détermination dans le sens mâle ou dans le sens femelle devienne réellement effective.

3. — *Les caractères sexuels secondaires morphologiques et physiologiques des castrats.*

Nous avons vu que la destruction élective de la lignée germinale n'a eu aucune influence sur l'organisation interne et externe des sujets traités. Le sexe en particulier est toujours aussi facilement reconnaissable que chez les témoins.

A part l'état stérile des testicules ou des ovaires, aucun des appareils génitaux examinés n'a présenté une anomalie quelconque par rapport au type normal. Les voies génitales, ainsi que les glandes annexes mâles ou femelles, les réceptacles seminaux et la pompe éjaculatrice, étaient sans exception normalement conformés et ne présentaient ni hypertrophie ni atrophie. A chaque appareil génital mâle ou femelle correspondaient régulièrement les caractères sexuels secondaires de l'un ou de l'autre sexe, à savoir: les orifices génitaux et les organes copulateurs, la forme caractéristique de l'abdomen, la pigmentation des derniers anneaux abdominaux, variables suivant les sexes, enfin la présence du peigne sexuel sur le premier tarse des pattes antérieures des mâles.

La différenciation sexuelle des castrats s'étend aussi aux caractères d'ordre physiologique et psychique:

Les mâles castrés manifestent dès l'éclosion un instinct sexuel aussi prononcé que les témoins, en « flairant » et en touchant avec la trompe l'ouverture femelle d'une façon caractéristique; cette manœuvre s'exerce aussi bien vis à vis des femelles castrées que vis à vis des femelles normales. *J'ai même observé un accouplement entre mâle et femelle castrés*; et, à plusieurs reprises, entre mâles castrés et femelles vierges normales. Ces dernières qui, lors de cet accouplement, n'ont naturellement pas reçu de sperme, se sont comportées par la suite comme des femelles vierges normales. Bien que leurs ovaires renfermassent de nombreux œufs mûrs, la ponte manqua pendant plusieurs jours, jusqu'à ce que leurs abdomens fussent démesurément gonflés. Finalement, elles expulsèrent leurs œufs par une abondante ponte de détresse. Ceci montre,

ainsi que l'a déjà fait remarquer GUYÉNOT¹ (1913) que l'effet mécanique de l'accouplement seul ne suffit pas, pour que les pontes se fassent régulièrement, mais que la présence des spermatozoïdes dans les voies génitales de la femelle est indispensable. Comme les glandes annexes fonctionnent normalement chez les castrats et déversent leur sécrétion dans le canal déférent qui en est bourré, tout porte à croire que ce produit est éjaculé par la pompe pendant l'accouplement comme à l'ordinaire. On peut donc aller plus loin et dire que la sécrétion prostatique seule, ne contenant pas de spermatozoïdes (qui modifieraient peut-être son chimisme) ne suffit pas non plus pour déclencher la ponte. -- Je mentionnerai enfin que les femelles se sont fréquemment accouplées avec des mâles témoins, leurs réceptacles, examinés sur coupes, contiennent alors régulièrement de nombreux spermatozoïdes.

Ces faits confirment chez les Diptères ce que OUDEMANN (1899), KELLOG (1904), MEISENHEIMER (1907-1908), KOPEC (1909-10-11-13), REGEN (1909), LA BAUME (1910) et PRELL (1915) ont déjà établi chez d'autres insectes, notamment chez les Lépidoptères, par des castrations et des transplantations de glandes génitales mâles et femelles sur des larves. Ces auteurs ont démontré avec une grande certitude que la castration expérimentale reste sans influence sur l'ensemble des caractères sexuels secondaires des imagos; ces caractères sont donc indépendants de toute action hormonique et paraissent dépendre uniquement de la constitution factorielle, établie déjà au moment de la fécondation de l'œuf.

On pourrait toutefois objecter, sans grande vraisemblance d'ailleurs, à ces expériences que les castrations ou les transplantations de glandes génitales ont été effectuées d'une façon trop tardive, si bien qu'une certaine action hormonique aurait pu s'exercer pendant la vie embryonnaire et le début de la vie larvaire.

Pareille objection ne saurait être formulée dans le cas de mes expériences, puisque le germe a été détruit dès sa formation ou même avant l'existence des cellules germinales, à un stade très

¹ *Le déterminisme de la ponte*, C.R. Soc. Biol., t. 74 (p. 445): « L'accouplement intervient peut-être en partie comme un stimulant mécanique, car les premiers œufs pondus ne sont généralement pas fécondés. La présence des spermatozoïdes dans le réceptacle séminal de la femelle paraît cependant constituer la *condition principale*. Lorsqu'en effet la provision de spermatozoïdes d'une femelle est épuisée, par utilisation ou résorption, la ponte cesse brusquement... »

précoce du développement embryonnaire qui suit de près la fécondation. Il n'y a donc aucun doute que les caractères sexuels secondaires sont, dès leur réalisation, tout à fait indépendants de la lignée germinale elle-même.

Les partisans d'une action hormonique « quand même » pourraient m'objecter que je n'ai éliminé dans mes expériences que les éléments germinaux et non pas les autres constituants de la gonade (toutes les cellules d'origine mésodermique) qui, par analogie avec ce qui se passe chez les vertébrés, pourraient être considérés comme une sorte de tissu interstitiel, siège d'une action hormonique. Je ne crois pas qu'un argument de ce genre puisse sérieusement se défendre chez les Diptères. Il serait en effet un peu arbitraire de comparer, dans le cas du mâle, les cellules des canaux, les cellules nourricières, les cellules de l'apex ou les cellules pariétales, ou bien, dans le cas de la femelle, le mésenchyme ou les cellules épithéliales à un tissu à sécrétion hormonique; nous savons en effet que, si la suppression de la lignée germinale n'a pas empêché l'organisation des dérivés mésodermiques, elle a tout de même conditionné un arrêt précoce dans leur différenciation cytologique qui a été décrit plus haut.

Je conclus donc que, chez les Diptères, la détermination sexuelle somatique est sans aucun doute établie au moment de la fécondation; elle ne représente en somme qu'un cas particulier de la détermination générale, dont j'ai déjà parlé (Chapitre VIII. 1).

4. — Stérilité génétique et stérilité expérimentale.

On a signalé, chez *Drosophila melanogaster*, de nombreux cas de « stérilité », affectant l'un ou l'autre sexe.

MORGAN (1916) a décrit de tels cas sous le nom de « rudimentary males and femals » et arrive, — pour les femelles qu'il a eu l'occasion d'étudier, — à la conclusion que la stérilité provient de ce que l'ovaire ne peut produire qu'un nombre d'œufs très restreint. La ponte est souvent retardée; si elle a lieu, les quelques œufs formés évoluent normalement. Quant aux autres éléments germinaux de ces ovaires, ils restent arrêtés dans une phase précoce de l'ovogenèse et sont incapables d'atteindre le terme de leur évolution.

J'ai moi-même rencontré, dans mes élevages, des mâles très peu fertiles et souvent incapables de féconder les femelles, bien que l'accouplement ait eu lieu. Ces femelles insuffisamment fécondées ont souvent pondu abondamment, mais seuls deux ou trois œufs — ceux qui étaient fécondés — ont pu se développer. Cela prouve que la quantité de spermatozoïdes produite par ces mâles était très insuffisante. Les testicules avaient cependant une apparence normale, contenaient des spermatozoïdes mobiles, mais, en effet, en petite quantité. J'ai pu observer que ce caractère est lié au sexe et se transmet à la descendance mâle, mais jamais aux femelles. Dans la mutation « divergent » que j'ai obtenue, c'étaient par contre les femelles qui se signalaient par un manque évident de fertilité. Des autopsies multiples m'ont révélé le même état de chose que chez les « rudimentary femals » de MORGAN (voir 2^{me} Partie p. 274).

Il s'agit donc, en résumé, chez ces mouches, d'une stérilité relative, conditionnée par certains facteurs génétiques et qui s'exprime par le fait que la plupart des éléments germinaux sont incapables d'aboutir à la formation des cellules reproductrices.

Il existe un autre type de stérilité génétique correspondant à la mutation « *ovaless* », mentionnée dans « *The Genetics of Drosophila* » p. 232 et qui n'a pas été décrite en détail. Il s'agit de femelles « entièrement dépourvues d'ovaires », tandis que le reste de l'appareil génital est normal; les mâles sont toujours normaux. Le Professeur BRIDGES qui a étudié cette mutation a bien voulu me donner quelques renseignements supplémentaires et m'a indiqué que les oviductes se terminent chez ces femelles par une touffe de trachées, accompagnée d'un petit amas de tissu, dans lequel on n'observe jamais ni vitellogenèse, ni formation d'œufs. Cette description rappelle d'une façon frappante celle que j'ai donnée pour l'ovaire des femelles castrées expérimentalement. Il semble donc que, dans la mutation « *ovaless* », certains facteurs génétiques aient conditionné la disparition du territoire germinal dans l'œuf ou aient empêché l'arrivée des cellules polaires à l'intérieur de l'ébauche mésodermique de la gonade. Au lieu d'être liée à une intervention expérimentale, la cause de la castration est ici d'ordre génétique, mais l'effet, c'est à dire le retentissement sur le futur ovaire, reste le même. Les mutations « *eyeless* », « *vestigial* » et d'autres nous apprennent que la suppression de certaines parties

de l'organisme peut, en effet, être due à des conditions génétiques particulières.

En autopsiant, au cours de mes recherches, un grand nombre de *Drosophiles*, j'ai eu sous les yeux des centaines d'appareils génitaux mâles et femelles. Je n'ai cependant jamais pu observer une anomalie quelconque de ces organes chez les témoins, à l'exception d'un seul cas. Il s'agissait d'un mâle qui présentait une réduction des testicules aussi considérable que chez les castrats expérimentaux. Il leur était en tout comparable, même au point de vue de la structure histologique. Cette castration naturelle, qui est certainement extrêmement rare, pourrait être due à un accident au cours du développement ou à l'apparition d'une mutation.

Je ne voudrais pas terminer ce chapitre sans mentionner les recherches que BENOIT a exposées au Congrès du sexe à Londres, cet été (1930) et qui n'ont pas encore été publiées en détail. Cet auteur a détruit, à l'aide des rayons ultra-violets, les gonocytes primaires du poulet aux premiers stades du développement, avant qu'ils aient pénétré à l'intérieur de l'embryon. Dans les cas bien réussis, les cellules germinales initiales montrent des signes de dégénérescence et n'arrivent pas à émigrer dans l'épithélium coelomique de l'éminence génitale. Cette étude expérimentale, faite dans un groupe zoologique si différent des insectes, mais avec le même moyen technique, permettra sans doute de faire des comparaisons intéressantes.

TROISIÈME PARTIE

RAYONS ULTRA-VIOLETS ET MUTABILITÉ.

HISTORIQUE.

On considère généralement que les mutations qui apparaissent de temps à autre spontanément, dans la nature, sont dues à des sortes d'accidents qui se produiraient au cours des réactions physico-chimiques, à l'intérieur des cellules germinales et suivant les lois du hasard. Il devient dès lors fort probable que des agents, augmentant la vitesse de ces réactions intracellulaires (et des réactions chimiques en général), seraient capables d'accroître la fréquence des mutations.

Parmi les agents modifiant la vitesse des réactions chimiques, il faut spécialement citer la température, puis différentes radiations, telles que les rayons du radium, les rayons X et les rayons ultra-violets.

Ainsi TOWER (1906) a obtenu une augmentation considérable des mutations en soumettant des *Leptinotarsa decemlineata* à l'action d'une température élevée (35°) pendant la période de formation des éléments reproducteurs. MÜLLER (1927) de même, en élevant la température de 19° à 27°, a obtenu chez la *Drosophile* un taux de mutations qui est environ 3 fois plus élevé que normalement. L'action du radium a été essayée par LÆB et BANKROFT (1911) également sur *Drosophila melanogaster*. Ils ont obtenu 10 mutations sur 200, ce qui représente une forte proportion; mais comme il se produisait également des mutations assez fréquentes chez les témoins, il est difficile de considérer ces résultats comme définitifs. Plus récemment (1928), HANSON et HEYS ont provoqué des mutations léthales chez la *Drosophile*, en exposant des mâles aux rayons du radium. Les données les plus précises nous ont été fournies en 1927 par les travaux de MÜLLER qui a soumis des *Drosophiles* adultes, mâles et femelles, à l'action des rayons X.

MÜLLER s'était proposé de suivre spécialement les mutations liées au sexe qui devaient donc être consécutives aux transformations de gènes localisés dans le chromosome X. Ces mutations deviennent apparentes immédiatement dans le sexe mâle et l'on peut alors vérifier, par l'étude de la descendance, si elles s'étaient effectivement produites dans le chromosome X venant du parent traité. Tandis que la descendance de 946 femelles témoins ne comportait qu'une seule mutation léthale, 783 femelles, filles de parents traités, ont produit 86 mutations léthales, 19 semi-léthales et 19 portant sur des caractères visibles. Toutes ces mutations avaient apparu dans le chromosome provenant de celui des parents qui avaient été soumis aux rayons.

Il est inutile d'insister ici sur les autres expériences de MÜLLER et sur celles d'une série d'auteurs qui ont utilisé la même méthode et obtenu des résultats comparables.

L'irradiation ne fait d'ailleurs que déclencher une plus grande fréquence des mutations que l'organisme est susceptible de présenter normalement. La nature de ces variations est déterminée par la constitution même du patrimoine héréditaire.

Ces remarquables résultats expérimentaux montrent que la lignée germinale, quoique difficile à atteindre, n'est pas tout à fait à l'abri de certains facteurs du milieu; il suffit que les agents externes puissent, comme les rayons X, pénétrer jusqu'à elle.

Quels sont maintenant les résultats qui ont été obtenus avec les *rayons ultra-violets* ?

J'ai déjà mentionné dans l'avant-propos que le point de départ de mes recherches avait été le désir de reprendre et de compléter les expériences de GUYÉNOT (1914). Cet auteur, en soumettant à l'action des rayons ultra-violets des cultures de *Drosophila melanogaster* comprenant en vrac des adultes, des pupes, des larves et des œufs, avait obtenu les résultats suivants: les doses d'ultra-violet utilisées tuaient les œufs, mais ne semblaient pas affecter les larves ni les mouches adultes. Les femelles, issues de lots irradiés, ont donné naissance d'abord à une série d'œufs qui, se développant normalement, ont abouti à la formation de mouches d'aspect normal, caractérisées cependant par un reflet brillant des yeux. Quant aux œufs qui ont été pondus par ces mêmes femelles plus tard, au bout de 48 heures environ, ils avortèrent presque

tous et GUYÉNOT conclut qu'ils avaient dû être atteints par les rayons alors qu'ils étaient encore à un stade précoce de leur évolution à l'intérieur du corps maternel. De ce fait, la première génération de ces femelles fut peu abondante. Or, en croisant entre eux les individus de première génération on obtint une descendance F 2 peu nombreuse qui comprenait, sur environ 200 individus normaux, 13 *mutants* nettement *melaniques*. Ces mouches se sont montrées infécondes, soit entre elles, soit avec les conjoints de la lignée normale. Ces mutations, apparues à la seconde génération, étaient-elles réellement dues à l'action des rayons ? La dégénérescence d'une grande partie des œufs de la F 1 semblait parler en faveur d'une influence directe des radiations sur la gonade, provoquant d'une part l'avortement des éléments jeunes et modifiant d'autre part génétiquement les œufs plus avancés. De nouvelles expériences auraient dû éclaircir ce problème intéressant lorsque la guerre est venue interrompre ces recherches.

ALTENBURG (1928) a repris plus récemment l'étude de l'action génétique des rayons ultra-violets sur des mâles adultes de *Drosophila melanogaster* présentant le caractère sex-linked « bobbed ». Ces mâles furent croisés, après irradiation, avec des femelles ayant dans leur chromosome X une constitution génétique différente. Dans le cas où le chromosome X des mâles traités aurait été modifié d'une façon ou d'une autre, cela devait apparaître chez les mâles F 2, descendants des femelles F 1 (filles de pères irradiés). L'auteur trouva dans la descendance de 844 femelles F 1 examinées, seulement 3 *mutations léthales*, localisées toutes dans le chromosome X traité. Mais il s'agit là d'une fréquence plutôt inférieure à celle qu'on peut observer chez les témoins. L'auteur émit alors l'opinion qu'à partir d'une certaine longueur d'onde les radiations ne peuvent plus produire de mutations: les courtes longueurs d'onde des rayons X agissent positivement (MÜLLER), les rayons ultra-violets à grandes longueurs d'onde ne donneraient aucun résultat.

ALTENBURG a utilisé pour ses expériences des doses aussi élevées que possible (distance: 5 cm.; durée: $\frac{1}{2}$ h. à 4 h.; source lumineuse: lampe à mercure Cooper-Hewitt). Les mouches ainsi traitées meurent souvent, ou bien sont rendues *stériles*. Cette dernière observation d'ALTENBURG, qui n'est malheureusement pas suivie d'une description plus détaillée, nous intéresse spécialement, car on pourrait en déduire que les rayons traversent le corps des mouches, viennent

agir sur les éléments de la glande germinale en les détruisant, mais jamais, en les modifiant génétiquement. Le pouvoir de pénétration de l'ultra-violet a été étudié par cet auteur en interposant des mouches entre des sels fluorescents et la lampe; la fluorescence n'étant que très peu atténuée sous le corps des mouches, il en conclut que les rayons parviendraient sans difficulté à traverser le corps de ces insectes.

J'ai toutefois des raisons (voir le chapitre suivant) de mettre en doute cette affirmation.

CHAPITRE IX. — POUVOIR PÉNÉTRANT DE L'ULTRA-VIOLET ET SON APPLICATION EN GÉNÉTIQUE.

J'ai étudié, pendant ces dernières années, dans de nombreuses séries expérimentales, l'action de l'ultra-violet sur les *larves*, les *pupes* et les *mouches adultes* de la *Drosophile* (S. G. et White), sans jamais observer une influence quelconque sur le patrimoine héréditaire. La descendance de ces individus traités a été suivie souvent jusqu'à la troisième, parfois jusqu'à la quatrième génération, sans qu'il ait été possible de constater le moindre retentissement génétique.

a) *Irradiation de mouches adultes.*

Comme dans les expériences d'ALTENBURG, l'action des rayons se traduisait surtout par la mortalité des mouches exposées. Voici, à titre de comparaison, quelques exemples tirés de mes expériences concernant l'action de l'ultra-violet sur les mouches adultes, exposées dans des tubes de quartz¹. Ils nous montrent le degré de la mortalité après différentes doses appliquées en une fois ou à deux reprises (voir le tableau p. 260).

Il résulte de ces observations que les doses fortes tuent presque immédiatement (*a.*), tandis que des doses apparemment très faibles (*e.*) peuvent quand même être mortelles après un certain *temps de latence*. Il y a de petites différences dans la résistance individuelle des exposés.

Dans tous les cas, la mort est précédée d'un état de *paralysie*

¹ Les autres conditions expérimentales sont identiques à celles décrites dans le chapitre « Matériel et technique ».

	Exposés	Dose (simple ou double)	Mortalité
a)	30 mâles S.G.	$\frac{5 \text{ h.}}{30 \text{ cm.}}$ 1 ^{er} jour = dose simple	2 morts pendant l'exposition 9 morts 3 heures plus tard 9 morts au cours de la 2 ^{me} journée
b)	20 mâles S.G.	$\frac{1 \text{ h.}}{30 \text{ cm.}}$ 1 ^{er} jour = dose simple	2 ^{me} jour: 12 morts 3 ^{me} jour: 8 morts
c)	20 mâles S.G.	$\frac{1/2 \text{ h.}}{30 \text{ cm.}}$ 1 ^{er} + 2 ^{me} jour = dose double	3 ^{me} jour: 12 morts 4 ^{me} jour: 7 morts Le dernier reste vivant pendant quelques jours, mais ne s'ac- couple pas
d)	30 mâles S.G.	$\frac{1/2 \text{ h.}}{50 \text{ cm.}}$ 1 ^{er} + 2 ^{me} jour = dose double	3 ^{me} jour: pas de décès 4 ^{me} jour: 2 morts 5 ^{me} jour: 16 morts 6 ^{me} jour: 10 morts 7 ^{me} jour: 2 morts
e)	5 femelles S.G.	$\frac{10 \text{ min.}}{60 \text{ cm.}}$ 1 ^{er} jour = dose simple	2 ^{me} , 3 ^{me} , 4 ^{me} , 5 ^{me} , 6 ^{me} , 7 ^{me} jour: pas de décès 8 ^{me} jour: 2 morts 9 ^{me} jour: 1 mort 10 ^{me} , 11 ^{me} , 12 ^{me} jour: pas de décès 13 ^{me} jour: 1 mort La 5 ^{me} femelle vit encore plusieurs jours et se reproduit activement

qui se manifeste presque toujours en premier lieu dans la dernière paire de pattes, s'étend ensuite à la deuxième et à la première paire, puis à la trompe. Toutes ces parties finissent par être complètement immobilisées. Les pattes sont alors soit pliées, soit raidies en extension. On sait qu'une des propriétés de l'ultra-violet est de changer le tonus musculaire et c'est peut-être à un phénomène de ce genre qu'on doit attribuer cette paralysie plutôt qu'à une action sur le système nerveux. En diminuant la dose, on augmente le temps de latence précédant la mort et on allonge en même temps la période de paralysie. J'ai vu des mouches vivre pendant 6 jours dans cet état de paralysie progressive.

Des mâles fraîchement irradiés s'accouplent facilement et ont toujours donné une descendance (F 1 et F 2) entièrement normale.

Quant aux mâles frappés de paralysie, ils sont naturellement incapables de s'accoupler. Mais les autopsies de près de 150 mâles devenus paralytiques, ou venant de mourir après des doses fortes ou faibles, ont montré que les testicules étaient sans exception d'apparence normale; en les dilacérant dans la solution de RINGER, on pouvait toujours observer un grand nombre de spermatozoïdes mobiles.

Quant aux femelles fécondées, elles continuent souvent à pondre, même après que l'état paralytique s'est déclaré. Ainsi j'ai observé une femelle qui est morte après plusieurs jours de paralysie, pendant qu'elle était en train de pondre. Tous les œufs pondus en dernière heure — un d'entre eux se trouvait encore engagé dans le vagin au moment de la mort — se sont développés en individus F 1 parfaitement normaux qui, à leur tour, ont donné une descendance F 2, puis F 3, nombreuse et entièrement normale. Il arrive aussi qu'une paralysie trop avancée empêche certaines femelles de pondre, mais les autopsies ont montré que leurs ovaires sont toujours normaux.

J'ai alors conclu que l'ultra-violet n'était pas capable d'agir sur des organes profonds tels que les gonades et j'ai attribué cela, avant tout, à son faible pouvoir de pénétration. Pour m'en rendre compte, j'ai exposé des mouches vivantes comprimées entre une plaque photographique et une plaque de quartz, en même temps qu'une mince lamelle de verre et un morceau de papier d'étain très fin, à titre de comparaison. Même après des doses prolongées, la plaque n'a jamais été impressionnée, ni à l'endroit recouvert par le papier d'étain ni au niveau des mouches, tandis que la lamelle de verre laissait passer des rayons, vraisemblablement surtout des rayons violets. Le corps des mouches constitue donc un *écran opaque* aux rayons.

Aussi bien, en ce qui concerne la non-stérilité des mouches exposées, qu'au point de vue du pouvoir de pénétration très faible des rayons, mes observations se trouvent en contradiction avec celles d'ALTENBURG. Il est d'ailleurs possible que la fluorescence légèrement atténuée qu'il observe sous des mouches irradiées ne soit pas attribuable au passage des rayons *à travers* le corps, mais à des effets de réfraction *latérale*, comme on en observe par exemple souvent dans des solutions fluorescentes. L'essai avec la plaque photographique me semble plus concluant.

En résumé, les irradiations de mouches adultes m'ont appris que, dans les conditions d'expérimentation où je me suis placé, les produits sexuels des gonades ne peuvent être ni détruits, ni modifiés génétiquement par les rayons. Cela semble être en rapport avec le pouvoir très faible de pénétration de l'ultra-violet, qui peut juste traverser la carapace chitineuse et atteindre tout au plus des tissus immédiatement sous-jacents, entre autres le milieu intérieur, ce qui provoque la paralysie et ses conséquences.

b) *Irradiation de pupes et de larves.*

Les irradiations de pupes et de larves ont confirmé entièrement les résultats obtenus chez les adultes, tout en apportant quelques faits nouveaux. Sans vouloir revenir sur ces expériences qui ont déjà été publiées sommairement, en 1926, j'en retiendrai les résultats essentiels (GEIGY 1926).

10. Exposition de la face dorsale de *larves avancées* et de *pupes très jeunes*:

Des doses relativement faibles de 10 à 13 minutes (60 cm. de distance) suffisent pour les tuer.

Lorsqu'on abaisse la durée à environ 5 minutes, la métamorphose peut s'achever, mais les mouches qui éclosent ont presque toujours des tergites abdominaux complètement moux, à peine chitinisés et mal développés; elles meurent bientôt sans laisser de descendance.

Une durée de 3 minutes n'influence plus la morphologie des mouches, mais agit seulement sur leur vitalité.

20. Exposition ventrale ou dorsale de *pupes d'âge moyen*, dans lesquelles la jeune imago est déjà indiquée:

Des doses de 13 minutes (60 cm.) provoquent, sur la face correspondante des futures mouches, des anomalies de toutes sortes.

Comme anomalies dorsales on rencontre, dans 90% des cas, une anomalie caractéristique de l'abdomen, consistant dans un défaut de soudure et souvent dans un changement d'orientation des tergites au niveau de la région médiane. Ce défaut principal peut être accompagné de différents autres, moins

fréquents: soies de la tête et du thorax partiellement absentes, raccourcies, en tire-bouchon, ou désorganisées; déformation du thorax; pigmentation irrégulière et incomplète sur toute la surface dorsale; torsion de la région génito-anale.

Les anomalies ventrales sont: raccourcissement considérable de plusieurs ou de tous les articles des pattes; chitination défectueuse des pattes qui ne peuvent pas supporter le poids du corps; dédoublement des sternites abdominaux.

J'ai réussi, à plusieurs reprises, à avoir la descendance de certaines de ces mouches anormales, et à la suivre jusque dans la F 3 sans y rencontrer une seule anomalie. Il s'agissait donc de pures somations.

3°. Exposition ventrale ou dorsale de *pupes avancées* au début de la formation du pigment rouge des yeux:

Même en employant des doses très élevées on ne peut plus provoquer les anomalies décrites plus haut. Même avec des durées de 20 minutes (60 cm.), on obtient généralement des mouches normales.

Avec des doses de 25 à 40 minutes, on voit apparaître, selon le point où l'irradiation a porté, des anomalies: de fortes dépigmentations; poils irréguliers; thorax boursoufflé; abdomen tordu; points ou vastes taches noirs, comparables à des brûlures, sous la chitine, traversant parfois la carapace en formant de larges plaies ouvertes; ailes desséchées, restant chiffonnées.

La reproduction est souvent possible, la descendance toujours normale. Des individus morts sans descendance ont été autopsiés et avaient toujours des gonades normales.

4°. Exposition de *pupes peu avant l'éclosion*:

Des doses même très élevées de 30 minutes à la distance diminuée de 40 cm., restent pratiquement sans effet, à part quelques cas de légères dépigmentations. Le tonnelet nymphal, ainsi que la carapace chitineuse formée, préservent donc les mouches suffisamment contre tout effet des rayons. La descendance est toujours normale.

En résumé, nous constatons que:

1. Les pupes et les larves montrent vis-à-vis des rayons une sensibilité variable, en raison inverse de leur âge.
 2. Toutes les anomalies observées portent exclusivement sur l'hypoderme nymphal en voie d'organisation et ce sont les productions ectodermiques (soies, pigment, chitine, etc.) qui portent l'empreinte de cette modification.
 3. Les rayons traversent l'enveloppe nymphale, atteignent l'hypoderme sous-jacent, mais jamais un organe profond. Les gonades notamment ne sont jamais influencées d'une manière quelconque.
 4. Les anomalies obtenues sont uniquement des somations non héréditaires.
-

Le mode d'action très superficiel des rayons ultra-violets me semble ainsi suffisamment démontré. Il diffère essentiellement de celui des rayons X qui sont connus pour leur exceptionnel pouvoir de pénétration.

Si les recherches d'ALTENBURG concernant l'action génétique de l'ultra-violet n'ont pas eu de résultats positifs, cela est dû en premier lieu à l'impossibilité d'atteindre la glande génitale en travaillant sur des mouches adultes. Pour savoir réellement si la lignée germinale peut être influencée par ces radiations, il n'y a qu'un moyen: agir aussi directement que possible sur les éléments sexuels. Puisque, comme je l'ai exposé dans la II^{me} Partie, on réussit à les détruire totalement (castration totale) ou partiellement (castration unilatérale), en exposant le pôle postérieur des œufs à des doses fortes, il n'est pas impossible que l'emploi de doses faibles produise des effets d'une autre nature. La destruction du territoire germinal résulte d'un grave bouleversement physico-chimique de la constitution du cytoplasme polaire qui retentit sur la vitalité des noyaux dès leur arrivée dans ce territoire. Connaissant l'interdépendance mutuelle entre les noyaux et le protoplasme, ne peut-on admettre qu'une modification moins profonde du blastème polaire serait capable de retentir sur la substance chromatique de certains noyaux et de déclencher de véritables mutations ?

L'expérience est ici profondément différente de celle que MÜLLER

a réalisée avec les rayons X, puisque, au lieu d'agir sur des spermatozoïdes tout formés, nous cherchons à modifier les initiales sexuelles ou même le territoire cytoplasmique de l'œuf destiné à donner naissance à la lignée germinale.

CHAPITRE X. — MUTABILITÉ DANS LES LIGNÉES IRRADIÉES ET CHEZ LES TÉMOINS.

A la fin du dernier chapitre, j'ai émis l'hypothèse qu'une faible irradiation du pôle génital des œufs pourrait avoir un retentissement ultérieur sur le patrimoine héréditaire. Il est facile de comprendre que, pour vérifier cette hypothèse, il faudrait pouvoir se baser sur un très grand nombre d'expériences faites avec une technique aussi précise que possible et sur l'étude comparative d'une descendance très nombreuse. Les expériences dont je me suis décidé à communiquer ici les résultats préliminaires ne remplissent pas ces conditions, mais pourront cependant servir de point de départ pour de nouvelles recherches dans ce domaine.

Nous avons vu dans la première Partie que les œufs irradiés en vue de la destruction du pôle germinal ont donné naissance, soit à des castrats totaux, soit à des castrats unilatéraux et régulièrement aussi à quelques *mouches normales*. En ce qui concerne ces dernières, nous avons admis qu'elles étaient issues d'œufs non atteints. Cette supposition était non seulement basée sur l'observation que presque à chaque exposition quelques œufs semblaient être plongés plus ou moins complètement dans l'ombre de l'écran, mais aussi sur le fait que, dans les coupes d'œufs irradiés, j'en ai souvent rencontré quelques-uns qui étaient parfaitement intacts. (p. 230)

La plupart de ces mouches « exposées mais non castrées », ainsi que deux castrats unilatéraux, ont été mis en reproduction en vue d'un examen de la descendance, en même temps que 18 couples témoins, provenant de la même souche. On trouvera, p. 269 à 273, les procès-verbaux de cette étude qui est caractérisée par l'apparition, dans la progéniture des exposés principalement, de toute une série de *mutations*. Je n'aurais pas mentionné ces premiers résultats si la disproportion très appréciable entre le taux des

mutants observés dans la descendance de mouches irradiées et celui des mutants apparus spontanément dans les stocks témoins ne m'avait pas parue significative.

Il y a d'ailleurs quelques faits en faveur de l'idée que les mouches normales, issues de lots d'œufs exposés, ont été cependant atteintes, au moins à un faible degré, — dans la *zone de pénombre* par exemple — par les rayons (voir p. 224).

En premier lieu, ces individus ont presque tous présenté un *développement retardé*, comme cela s'observe dans le cas de mouches indiscutablement irradiées et castrées. Ce retard, qui est habituellement d'un à deux jours, porte exclusivement sur la durée de la vie embryonnaire et larvaire; dans deux cas, cette dernière a été prolongée de 10 à 13 jours. La durée de la nymphose n'est jamais retardée.

D'autre part, une partie des lignées mutantes provient de mouches ayant subi la castration unilatérale; nous avons vu que, dans ce cas, le germen avait dû être atteint, mais plus ou moins faiblement, si bien qu'une partie au moins des cellules germinales a subsisté (voir p. 242).

Il y a donc des raisons de penser que l'élévation du taux de mutabilité est liée à l'irradiation pratiquée.

Voici maintenant l'exposé des résultats (voir p. 269-273).

J'ai suivi soigneusement la descendance de 18 couples témoins et de 18 couples dits « exposés ». Il s'agit, dans cette dernière catégorie, de couples se composant, soit de 2 mouches exposées à l'état d'œuf mais non castrées, soit d'une mouche non castrée croisée avec un témoin, soit enfin d'un castrat unilatéral croisé avec une mouche normale. Les numéros de séries précédés d'un A indiquent que les œufs ont été irradiés au stade blastème, précédés d'un B, au stade blastoderme. Les témoins proviennent de la même souche que les œufs irradiés. Tandis que dans le cas des exposés les individus F1 se sont fréquemment reproduits en vrac¹ pour donner la F2, les F1 témoins ont été presque sans exception isolés par couples² ce qui diminue encore la possibilité de laisser échapper un mutant.

Les mutations apparues ont pu être identifiées avec des muta-

¹ Plusieurs individus sur un grand milieu (ERLENMEYER).

² Dans les tubes à essais.

tions déjà décrites par MORGAN et BRIDGES. Il y a cependant une réserve à faire en ce qui concerne « Delta 2 »; j'y reviendrai plus en détail.

Ce qui frappe avant tout, c'est que la fréquence et le nombre des mutants est beaucoup plus élevé chez les exposés que chez les témoins. Ainsi, sur 18 couples exposés, 9 ont donné des mutations, chez les témoins seulement 4. La F1 des témoins n'a donné aucune mutation, elles n'ont apparu qu'à la F2. Abstraction faite du couple 4 et 17, le taux des mutants (individuellement pour chaque couple) est faible chez les témoins, presque toujours beaucoup plus élevé dans la série des exposés. La différence devient encore plus nette, lorsqu'on compare les chiffres globaux:

Exposés:

F1 sur 1,016 individus 24 mutants = 2,36%

11 « Divergent »

13 « Delta 2 »

F2 sur 13,469 individus 105 mutants = 0,76%

54 « Divergent »

29 « Delta 2 »

19 « Ski »

2 « Vestigial »

1 « White ».

Témoins:

F1 sur 1,052 individus 0 mutant

F2 sur 11,327 individus 27 mutants = 0,23%

18 « Divergent »

4 « Ski »

5 « Divergent-Ski »

Pour avoir des renseignements complémentaires sur la mutabilité des témoins, j'ai suivi un stock de la même souche qui se composait de 378 mouches toutes normales; élevées en vrac, elles ont donné naissance à une F1 comprenant 2590 mouches normales et 4 individus vraisemblablement « Ski », mais dont je n'ai pas obtenu de descendance. Quoi qu'il en soit, là encore le taux de la mutabilité est très bas.

On remarque en outre que les exposés ont produit 5 sortes de mutations: « Divergent », « Delta 2 », « Ski », « Vestigial » et « White », tandis que les témoins n'ont fourni que 2 types de mutants: « Di-

vergent » et « Ski ». De plus, j'ai rencontré à plusieurs reprises de fortes disproportions numériques entre mâles et femelles, le sexe mâle étant réduit par l'action probable de facteurs léthals liés au sexe. (Voir: A/S. IV. *a*, 2^{me} couple F1 et F2; B/S. II. *a*, 2^{me} couple, F1 et F2; témoins: 2^{me} couple F1, 14^{me} couple F2). Bien que la disproportion soit plus marquée chez les exposés et se retrouve très nettement à la F2, je n'en ai pas tenu compte dans le dénombrement des mutations.

Si l'on fait le total des mutations obtenues en F1 et F2, on obtient

sur 14.485 exposés — 129 mutations,

sur 14.969 témoins — 31 mutations.

Il pourrait être intéressant de constater, que, d'une manière générale, les mutations récessives ne sont sorties qu'à la F2 (à l'exception du lot B/S. IV. *a*), tandis que « Delta 2 », qui est dominant, est déjà sorti à la F1.

A. Procès-verbal de la descendance de 18 couples exposés

Chiffres des séries	P (normaux)	F ₁ normaux	F ₁ mutants	Mode de reproduction	F ₂ normaux	F ₂ mutants
A/S. I. a)	1 ^{er} couple ♀ vierge, témoin × ♂ exposé, non castré (retard: 1 à 2 jours)	30 ♀ } 54 24 ♂ }	7 ♀ } 13 « Delta » 6 ♂ }	en vrac	321 ♀ } 596 275 ♂ }	20 ♀ } 28 « Delta » 8 ♂ } 1 ♀ } 2 « Ski » 1 ♂ }
	2 ^{me} couple ♀ vierge, témoin × ♂ exposé, non castré (retard: 1 à 2 jours)	43 ♀ } 72 29 ♂ }		en vrac	400 ♀ } 735 335 ♂ }	
	3 ^{me} couple ♀ vierge, témoin × ♂ exposé, non castré (retard: 1 à 2 jours)	33 ♀ } 58 25 ♂ }		en vrac	356 ♀ } 666 310 ♂ }	1 ♀ } « Delta » 1 ♂ } 3 ♀ } 4 « Divergent » 1 ♂ } 1 ♀ } 2 « Ski » 1 ♂ }
A/S. I b)	1 ^{er} couple ♀ } exposés ♂ } non castrés (retard: 2 jours)	23 ♀ } 56 33 ♂ }		en vrac	497 ♀ } 892 395 ♂ }	4 ♀ } 11 « Divergent » 7 ♂ }
	2 ^{me} couple ♀ } exposés ♂ } non castrés (retard: 1 à 2 jours)	54 ♀ } 96 42 ♂ }		en vrac	367 ♀ } 764 397 ♂ }	
	3 ^{me} couple ♀ } exposés ♂ } non castrés (retard: 1 à 2 jours)	19 ♀ } 47 28 ♂ }		en vrac	234 ♀ } 488 254 ♂ }	

A. Procès-verbal de la descendance de 18 couples exposés (suite)

Chiffres des séries	P (normaux)	F ₁ normaux	F ₁ mutants	Mode de reproduction	F ₂ normaux	F ₂ mutants
A/S. II. a)	1 ^{er} couple ♀ exposée ♂ non castrés (retard: 1 jour)	28 ♀ 43 ♂ 15 ♀ 15 ♂		en vrac	133 ♀ 252 ♂ 119 ♀ 119 ♂	1 ♂ 1 ♂ 1 ♂ 1 ♂ « White » « Divergent »
	2 ^{me} couple ♀ exposée, non castrée × ♂ exposé, castration unilatérale (retard: 1 jour)	43 ♀ 80 ♂ 37 ♀ 37 ♂		par petits groupes (2 à 3 ♀ × 2 à 3 ♂)	680 ♀ 1300 ♂ 620 ♀ 620 ♂	
	3 ^{me} couple ♀ exposée, castration unilatérale × ♂ exposé, non castré (pas de retard)	35 ♀ 46 ♂ 11 ♀ 11 ♂		par couples et petits groupes	302 ♀ 608 ♂ 306 ♀ 306 ♂	13 ♀ 22 ♂ 9 ♀ 9 ♂ « Divergent » (dans un même lot !)
A/S. III. a)	Couple ♀ exposée, non castrée (pas de retard !) × ♂ témoin	22 ♀ 54 ♂ 32 ♀ 32 ♂		par couples et petits groupes	409 ♀ 778 ♂ 369 ♀ 369 ♂	4 ♀ 7 ♂ 3 ♀ 3 ♂ 1 ♀ 1 ♂ 1 ♀ 1 ♂ « Divergent » « Ski »
A/S. III. b)	Couple ♀ exposée, non castrée (retard 13 jours !) × ♂ témoin	22 ♀ 41 ♂ 19 ♀ 19 ♂		par couples et petits groupes	294 ♀ 545 ♂ 251 ♀ 251 ♂	
A/S. IV. a)	1 ^{er} couple ♀ exposée ♂ non castrés (pas de retard)	31 ♀ 65 ♂ 34 ♀ 34 ♂		en vrac + quelques couples	711 ♀ 1306 ♂ 595 ♀ 595 ♂	9 ♀ 13 ♂ 4 ♀ 4 ♂ « Ski »

A. Procès-verbal de la descendance de 18 couples exposés (suite et fin)

Chiffres des séries	P (normaux)	F ₁ normaux	F ₁ mutants	Mode de reproduction	F ₂ normaux	F ₂ mutants
A/S. IV. a) (suite)	2 ^{me} couple ♀ exposés ♂ non castrés (pas de retard)	24 ♀ 8 ♂ 32		en vrac	510 ♀ 290 ♂ 800	
	1 ^{er} couple ♀ exposés ♂ non castrés (pas de retard)	22 ♀ 22 ♂ 44		par couples	320 ♀ 262 ♂ 582	1 ♂ 1 ♀ 2 « Vestigial »
B/S. I. a)	2 ^{me} couple ♀ exposés ♂ non castrés (pas de retard)	33 ♀ 22 ♂ 55		en vrac	273 ♀ 253 ♂ 526	
	1 ^{er} couple ♀ exposée, non castrée ♂ témoin (retard: 1 jour)	37 ♀ 35 ♂ 72		en vrac + 2 couples	390 ♀ 283 ♂ 673	
B/S. II. a)	2 ^{me} couple ♀ exposée, non castrée (retard: 1 jour) × ♂ témoin	32 ♀ 15 ♂ 47		en vrac + quelques couples	307 ♀ 177 ♂ 484	
B/S. IV. a)	Couple ♂ exposé, non castré (retard: 1 jour) × ♀ vierge, témoin	26 ♀ 28 ♂ 54	4 ♀ 7 ♂ 11 « Divergent »	en vrac et par couples	776 ♀ 698 ♂ 1474	2 ♀ 7 ♂ 9 « Divergent » (dans un même lot I)

B. Procès-verbal de la descendance de 18 couples témoins

P (normaux)	F ₁ normaux	F ₁ mutants	Mode de reproduction	F ₂ normaux	F ₂ mutants
1 ^{er} couple	10 ♂ 6 ♀ } 16		par couples (échange des ♂♂)	253 ♂ 244 ♀ } 497	
2 ^{me} couple	26 ♂ 9 ♀ } 35		par couples	297 ♂ 309 ♀ } 606	
3 ^{me} couple	25 ♂ 38 ♀ } 63		par couples	271 ♂ 242 ♀ } 513	
4 ^{me} couple	48 ♂ 38 ♀ } 86		par couples + petits groupes	444 ♂ 368 ♀ } 812	$\left. \begin{array}{l} 3 \text{ } \text{♀} \text{ } \text{♂} \\ 4 \text{ } \text{♀} \text{ } \text{♂} \end{array} \right\} 7 \text{ « Divergent »}$ $\left. \begin{array}{l} 1 \text{ } \text{♀} \text{ } \text{♂} \\ 4 \text{ } \text{♀} \text{ } \text{♂} \\ 2 \text{ } \text{♀} \text{ } \text{♂} \end{array} \right\} 5 \text{ « Divergent, Ski »}$ $\left. \begin{array}{l} 4 \text{ } \text{♀} \text{ } \text{♂} \\ 2 \text{ } \text{♀} \text{ } \text{♂} \end{array} \right\} 4 \text{ « Ski »}$
5 ^{me} couple	19 ♂ 17 ♀ } 36		par couples	278 ♂ 231 ♀ } 509	
6 ^{me} couple	34 ♂ 33 ♀ } 67		par couples	213 ♂ 237 ♀ } 440	
7 ^{me} couple	25 ♂ 21 ♀ } 46		par couples	247 ♂ 228 ♀ } 475	$\left. \begin{array}{l} 1 \text{ } \text{♀} \text{ } \text{♂} \\ 1 \text{ } \text{♀} \text{ } \text{♂} \end{array} \right\} 2 \text{ « Divergent »}$
8 ^{me} couple	30 ♂ 26 ♀ } 56		par couples	366 ♂ 332 ♀ } 698	
9 ^{me} couple	29 ♂ 31 ♀ } 60		par couples	339 ♂ 351 ♀ } 690	
10 ^{me} couple	26 ♂ 20 ♀ } 46		par couples	332 ♂ 349 ♀ } 681	

B. Procès-verbal de la descendance de 18 couples témoins (suite et fin)

P (normaux)	F ₁ normaux	F ₁ mutants	Mode de reproduction	F ₂ normaux	F ₂ mutants
11 ^{me} couple. . . .	24 ♀ } 46 22 ♂ }		par couples	297 ♀ } 573 276 ♂ }	
12 ^{me} couple. . . .	32 ♀ } 67 35 ♂ }		par couples	326 ♀ } 624 293 ♂ }	
13 ^{me} couple. . . .	34 ♀ } 58 27 ♂ }		par couples	260 ♀ } 518 258 ♂ }	
14 ^{me} couple. . . .	36 ♀ } 54 48 ♂ }		par couples	338 ♀ } 656 318 ♂ }	
15 ^{me} couple. . . .	47 ♀ } 102 55 ♂ }		par couples	279 ♀ } 525 246 ♂ }	
16 ^{me} couple. . . .	42 ♀ } 96 54 ♂ }		en vrac	562 ♀ } 1076 514 ♂ }	
17 ^{me} couple. . . .	26 ♀ } 60 34 ♂ }		en vrac	584 ♀ } 1155 571 ♂ }	2 ♀ } 6 « Divergent » 4 ♂ }
18 ^{me} couple. . . .	34 ♀ } 58 24 ♂ }		en vrac	633 ♀ } 1279 646 ♂ }	3 ♂ } « Divergent »
210 ♀ } 378 468 ♂ } Mouches provenant de la même souche ayant fourni « ex- posés » et « té- moins ». Elevées en vrac, donnent:	1496 ♀ } 2590 1094 ♂ }	3 ♀ } 4 « Skt » 1 ♂ }			

CHAPITRE XI. — DESCRIPTION DES MUTATIONS OBTENUES.

1. « *Divergent* ».

« *Divergent* » constitue la mutation la plus fréquente dans mes séries; on la trouve également bien représentée chez les témoins. Le caractère morphologique essentiel consiste dans la position des ailes, qui, au lieu d'être pliées sur le dos, se trouvent écartées sous un angle plus ou moins voisin d'un angle droit par rapport au corps.

Je n'ai jamais vu voler un des ce mutants et il est probable que l'écartement des ailes provient d'une conformation rendant le vol impossible. Chez les toutes jeunes mouches qui viennent d'éclore et qui n'ont pas encore déployé leurs ailes, la divergence est déjà visible. On observe que les ailes se chiffonnent presque toujours au bout d'un certain temps, peut-être parce qu'elles sont moins résistantes et plus fines qu'à l'ordinaire, ou simplement parce que, en raison de leur position, elles traînent fréquemment sur le substratum et s'y collent. Cet inconvénient nuit aux mouches qui ont souvent de la peine à s'accoupler et qui vivent en moyenne moins longtemps que les témoins. La mortalité est grande.

Au moment de leur apparition, j'ai cru reconnaître dans ces mouches la mutation « *Spread* », décrite par MORGAN et BRIDGES (1923), qui présente exactement les mêmes caractères, sauf la faible viabilité. Cette dernière particularité m'a conduit à identifier les mutants avec le type « *Divergent* », mentionné par les mêmes auteurs, qui ressemble beaucoup à « *Spread* », mais qui a une forte mortalité et se reproduit difficilement.

En effet, les difficultés pour obtenir la descendance sont grandes. Si l'on autopsie les femelles 5 à 6 jours après leur éclosion, on s'aperçoit que les ovaires sont restés petits et contiennent tout au plus 3 à 4 œufs avancés et 1 à 2 œufs prêts à la ponte; les autres éléments germinaux restent arrêtés dans leur évolution¹.

Trois couples « *Divergent* » seulement m'ont donné une descendance:

¹ Voir MORGAN et BRIDGES: *Sex-linked inheritance in Drosophila*, 1916, p. 18 = stérilité.

- 1^{er} couple: Femelle vierge $\times$ mâle (les 2 « Divergent »). Ponte et larves. Il se forme une quinzaine de pupes mais les mouches meurent toutes avant l'éclosion.
- 2^{me} couple: Femelle vierge $\times$ mâle (les 2 « Divergent »). Plusieurs œufs ne se sont pas développés et plus de 20 pupes n'ont pas pu éclore. Pas une seule mouche viable.
- 3^{me} couple: Femelle vierge $\times$ mâle (les 2 « Divergent »). Donnent en
- | | | |
|------------------|---|---------------|
| F1: 15 femelles | } | « Divergent » |
| 12 mâles | | |
| et 1 mâle normal | | |

Toutes mes tentatives pour obtenir un stock « Divergent » ont échoué; cela tient à la très faible fertilité de ces mouches jointe à la forte mortalité des œufs et surtout des pupes (facteurs léthals).

D'après MORGAN, « Divergent », situé dans le troisième groupe chromosomique, est *recessif*. J'ai pu constater ce dernier point dans un croisement: femelle vierge « Divergent » $\times$ mâle témoin, qui a donné, à la F 1, 20 femelles et 9 mâles tous normaux; 6 couples F 1 ont donné naissance à la F 2, dans laquelle « Divergent », comme on devait s'y attendre, est ressorti, mais d'une façon assez inconstante selon les couples: 2 « Divergent » sur 47 normaux; 10 « Divergent » sur 44 normaux, etc. Ensemble, les six couples ont produit: 395 normaux sur 91 « Divergent »; (théoriquement 364 normaux sur 121 « Divergent »).

J'ajoute que « Divergent » est souvent, mais pas toujours, accompagné d'une anomalie, qui consiste dans des irrégularités ou des interruptions des tergites abdominaux. J'ai rencontré parfois cette même anomalie des tergites chez les témoins; de nombreux croisements m'ont montré qu'elle n'a pas de valeur héréditaire.

2. « Delta 2 ».

La mutation à laquelle j'ai donné le nom provisoire de « Delta 2 » (Δ^2) est sortie spontanément, à la F 1 et à la F 2 du premier couple de la série A/S I a) et a apparu chez un individu unique à la F 2 du troisième couple de la même série.

C'est la première fois que cette mutation apparaissait dans mes élevages. Je ne l'ai jamais retrouvée chez les témoins.

L'identification avec la mutation du même nom, décrite par MORGAN, n'est pas certaine. Voici la description que cet auteur en donne: « couleur générale du corps plus foncée que normalement,

yeux plus petits et rugueux, munis de poils résistants; les soies fortes et légèrement incurvées; pattes courtes; ailes plus foncées, plus étroites et un peu pointues, souvent écartées; nervures épaissies, spécialement au bout des ailes. »

Ce n'est que ce dernier caractère que j'ai retrouvé avec une grande netteté dans mes mutants, tandis que tous les autres détails morphologiques font défaut. L'anomalie des nervures est très variable comme le montre la planche 14, et porte principalement sur les II^e et V^e nervures (radiale 1 et cubitale). La figure *b* représente un cas d'anomalie très faible, qui n'est qu'une légère déviation du type normal (fig. *a*), consistant en quelques nodosités sur la II^e nervure. Ces épaississements sont déjà plus nets sur les figures *c* et *e*, où non seulement la II^e nervure, mais aussi — quoique faiblement — la V^e sont affectées. Dans la figure *d*, la II^e nervure est épaissie dans sa partie distale et s'étale en éventail ou « delta », là où elle aboutit à la marge de l'aile. La cubitale est peu nette et la petite nervure transversale, ou médio-cubitale, montre une irrégularité. Les figures *f*, *g*, *h* et *i* correspondent aux cas où l'anomalie atteint son plus haut degré: à part la deuxième nervure qui est toujours très fortement modifiée et forme un large « delta », parfois ramifié (fig. *h*), les III^e et IV^e nervures présentent souvent distalement de petits « delta », quelquefois aussi des épaississements dans la première partie de leur parcours. Quant à la V^e nervure, elle peut être complètement transformée en un large « delta » qui s'étend du point de jonction de la médio-cubitale jusqu'à la marge de l'aile (fig. *g* et *i*). Dans d'autres cas, l'étalement de la V^e nervure est moins marqué; elle peut alors ne pas rejoindre complètement la marge et détacher à l'intérieur une petite ramification en forme de crochet (fig. *h*).

Cette variabilité assez forte de l'anomalie est caractéristique. Que l'on croise des individus présentant tous deux un degré très faible (fig. *b*), ou des individus à anomalie forte (fig. *g* et *i*), on observera toujours dans la descendance la même fluctuation.

Le type de l'anomalie est toujours exactement le même sur les deux ailes; je n'ai jamais vu sur le même individu une aile du type représenté à la figure *b* combinée avec une aile comme celle de la figure *g*. Le caractère se présente exactement de la même façon chez les mâles et les femelles.

Il est difficile de saisir la genèse de ces épaississements des

nervures. Lorsqu'une mouche « Delta 2 », fraîchement éclore, déplie ses ailes, on remarque que le liquide lymphatique qui a rempli l'espace entre les deux lamelles de l'expansion alaire, se retire comme d'habitude. Puis l'aile commence à « se dessécher », c'est-à-dire que les lames dorsale et ventrale s'appliquent intimement l'une contre l'autre et forment une membrane résistante. Pour finir, le liquide ne se trouve plus qu'à l'intérieur des nervures; mais, dans le cas des mouches « Delta 2 », celles-ci n'ont, dès le début, pas de contours bien délimités, présentent des boursofflures et des expansions irrégulières (symétriquement sur l'aile gauche et l'aile droite!), dans lesquelles le liquide reste également accumulé. Dans ces endroits, l'accolement des deux lamelles ne se fait pas; les boursofflures feront dorénavant partie des nervures; leurs parois recevront le même revêtement chitineux; l'« épaissement » de la nervure est ainsi définitivement constitué.

La mutation « Delta 2 » s'est montrée aussi viable et aussi fertile que le stock témoin. De nombreux croisements ont établi que « Delta 2 » est dominant, mais ne se rencontre qu'à l'état hétérozygote. Il s'agit vraisemblablement d'une mutation *homozygote léthale*.

3. « Ski ».

La mutation « Ski » porte exclusivement sur les ailes, dont l'extrémité est plus ou moins courbée et relevée.

Les premiers mutants « Ski » que j'ai obtenus (A/S. I. a, 3^{me} couple, A/S. III. a), n'ont pas pu être élevés. J'ai réussi à former quelques couples avec les 13 « Ski » de A/S. IV. a et du 4^{me} couple témoin. Le caractère a régulièrement réapparu à la F 2, mais dans des proportions assez inconstantes:

8 « Ski »	sur	1 normal,	
25 »		»	15 normaux,
38 »		»	6 » etc.

Je n'ai jamais obtenu une lignée « Ski » pure.

Le caractère « Ski », tel que j'ai pu l'étudier, correspondait exactement à celui décrit et figuré par MORGAN (1923). J'ai cependant observé une certaine inconstance de ce caractère qui ne s'accusait pas toujours avec la même précision chez les descendants. Parfois l'extrême pointe seulement de l'aile était relevée; dans

d'autres cas, la courbe était beaucoup plus complète. Il n'y a pas de doute que tous les individus étaient des « Ski simplex »; malgré de nombreux croisements « Ski » $\times$ « Ski » je n'ai jamais réussi à obtenir le type constant « Ski duplex ». Pour le moment, cette étude n'a pas été poussée plus loin.

D'après MORGAN, la mutation « Ski » est due à l'action combinée d'un gène dominant du 2^{me} groupe et d'un gène récessif du 3^{me} groupe chromosomique.

4. « Vestigial ».

Le mâle et la femelle « Vestigial » ont été observés dans la descendance d'un seul et même couple F1 de la série B/S. I. *a*.

Ces deux mutants furent trouvés parmi les dernières mouches écloses sur un milieu déjà épuisé; comme il arrive souvent, dans ce cas, la plupart des mouches étaient mortes, entre autres la femelle « Vestigial », qui n'a malheureusement pas pu être utilisée pour la reproduction. Le mâle « Vestigial » par contre, était en très bon état et a vécu pendant 8 jours.

Cette éclosion tardive confirme bien la remarque faite par MORGAN (1919), selon laquelle les « Vestigial » ont l'habitude de quitter leur enveloppe nymphale avec un retard d'au moins deux jours par rapport aux témoins. Comme on le sait, les ailes sont ici réduites à de simples moignons plus ou moins importants, par le fait que les régions marginales et terminales de l'aile ont été supprimées, tandis que la partie basale, avec sa nervulation, est normalement constituée. D'autre part, les balanciers ont subi une réduction dans le même sens que les ailes; leur premier segment est normal, le deuxième segment est visiblement diminué; quant au troisième article, il est tout à fait rudimentaire. On note enfin que les deux dernières soies scutellaires sont plus écartées qu'à l'ordinaire et dressées, au lieu d'être dirigées en arrière.

Les deux mutants que j'ai obtenus étaient porteurs de tous ces caractères et paraissent donc bien correspondre au type « Vestigial ».

Malheureusement, le mâle « Vestigial », maintenu pendant huit jours en présence de femelles vierges témoins et de femelles vierges du stock « Vestigial » américain (ces dernières provenant d'un stock que notre Institut doit à l'obligeance du Professeur T. H.

MORGAN¹), n'a pas fécondé ces femelles. Ce manque de fertilité des mâles est fréquent dans la lignée « Vestigial ».

Je rappelle que, d'après MORGAN, « Vestigial » est recessif et appartient au deuxième groupe chromosomique.

5. « White »

Un mâle « White » unique apparut dans un élevage en vrac de la série A/S 2 a; il était accompagné de 252 frères et sœurs normaux.

Il correspond exactement à la première mutation sex-linked, récessive, trouvée en mai 1910 par MORGAN, et caractérisée par ses yeux blancs (voir MORGAN et BRIDGES, 1916).

J'ai effectué les croisements suivants qui ont entièrement confirmé l'identification phénotypique:

Mâle « White » × femelle vierge S.G. donnent en

F 1: 15 femelles rouges, hétérozygotes

8 mâles rouges purs

On a fait avec ces individus les combinaisons suivantes:

a) 3 femelles hétérozygotes × 3 mâles rouges purs

b) 2 femelles hétérozygotes × 2 mâles S.G.

c) 3 femelles hétérozygotes × 3 mâles « White » (du stock Morgan) qui donnent:

a) 82 femelles rouges + 47 mâles rouges
44 mâles « White »

b) 96 femelles rouges + 50 mâles rouges
43 mâles « White »

c) 45 femelles rouges + 32 mâles rouges
34 femelles « White » + 38 mâles « White »

Comme on peut le voir, les résultats obtenus correspondent au schéma classique de l'hérédité liée au sexe.

Je possède actuellement un stock « White » issu de ce mâle.

¹ Je m'empresse de faire remarquer ici que je ne cultive dans mon laboratoire que la race S.G. L'élevage des stocks « vestigial », « white », etc., se fait dans un autre bâtiment de notre Institut. Il est donc impossible que, malgré mes précautions, une de ces mutations se soit introduite dans les milieux en expérience.

CONCLUSIONS

1. J'ai suivi, dans l'œuf de *Drosophila melanogaster*, la formation des initiales sexuelles ou cellules polaires, ainsi que l'évolution de la gonade mâle et femelle à travers les périodes larvaire, nymphale et imaginale de la vie.

2. J'ai pu caractériser, dans le testicule, les catégories cellulaires suivantes: cellules germinales, cellules pariétales, cellules des canaux (qui donnent probablement aussi naissance aux cellules nourricières) et cellules de l'apex. Les éléments de l'ovaire sont: les cellules germinales, les cellules mésenchymateuses et les cellules épithéliales.

3. Il est possible d'empêcher expérimentalement la formation des initiales sexuelles en opérant, au stade *blastème*, la destruction du pôle postérieur de l'œuf à l'aide des rayons ultra-violets. Dans les cas de pleine réussite, j'ai pu provoquer ainsi la *castration totale* dans les deux sexes.

4. L'irradiation au stade *blastoderme* du groupe des cellules polaires déjà formées entraîne trop facilement des destructions irréparables du blastoderme voisin qui sont mortelles pour l'individu. On note cependant parfois, dans ces séries, l'apparition de *castrations unilatérales*.

5. Les castrats totaux possèdent des gonades droite et gauche tout à fait rudimentaires, les castrats unilatéraux une gonade réduite seulement d'un côté, tandis que l'autre glande génitale est fonctionnelle et présente des dimensions qui peuvent être en dessus ou en dessous de la taille normale.

6. L'identification histologique a permis de retrouver, dans le testicule stérile des castrats totaux et unilatéraux, toutes les catégories cellulaires mentionnées précédemment, sauf les cellules germinales qui font complètement défaut; ces dernières sont donc les seuls descendants des cellules polaires. Il est certain que les autres éléments des gonades ont une origine différente, vraisemblablement mésodermique.

7. Le développement normal et parfaitement indépendant des autres constituants de la gonade, ainsi que du reste de l'appareil génital et des caractères sexuels secondaires morphologiques et physiologiques, en l'absence des cellules polaires, prouve la précocité de la détermination somatique et sexuelle chez les Diptères et démontre une fois de plus l'absence d'hormones sexuelles.

8. De nombreuses irradiations de larves, pupes et imagos de *Drosophila*, effectuées dans le but d'obtenir une action génétique comparable à celle des rayons X, sont restées négatives. Les expériences montrent que ces insuccès sont dûs au faible pouvoir de pénétration des rayons ultra-violet.

9. Il est possible qu'on puisse, en exposant directement les initiales sexuelles, dans l'œuf, à des doses d'ultra-violet non léthales, obtenir des modifications génétiques de la lignée germinale. Les premiers essais dans cette direction ont montré une élévation très nette de la mutabilité dans la descendance de mouches exposées à l'état d'œuf.

AUTEURS CITÉS

1928. ALTENBURG, E. *The limit of radiation frequency effective in producing mutations*. The Amer. Natur. T. 62.
1878. BOBRETZKY, N. *Ueber die Bildung des Blastoderms und der Keimblätter bei den Insekten*. Ztschr. wiss. Zool. Bd. 31.
1897. BRUEL, L. *Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Geschlechtsausführwege sammt Annexen von Calliphora erythrocephala*. Zool. Jahrb. (Abt. f. Anat.), Bd. 10.
1905. CHOLODKOWSKY, N. *Ueber den Bau des Dipterenhodens*. Ztschr. f. wiss. Zool., Bd. 82.
1900. ESCHERICH, R. *Ueber die Bildung der Keimblätter bei den Musciden*. Nova Acta Leopold., Bd. 77.
1926. GEIGY, R. *Une anomalie non-héréditaire provoquée par les rayons ultraviolets chez la Drosophile*. C. R. Séances Soc. Phys. et d'Hist. nat., Genève, vol. 43.
1927. — *Production d'anomalies par exposition de Drosophiles aux rayons ultraviolets*. A. Soc. Helv. Sc. nat., II^{me} partie, p. 191-192.
1928. — *Castration de mouches par l'exposition de l'œuf aux rayons ultraviolets*. C. R. Soc. Biol., vol. 48, p. 106.
1927. GOERTTLER, K. *Die Bedeutung gestaltender Bewegungsvorgänge beim Differenzierungsgeschehen*. Arch. f. Entw. Mech., Bd. 112.
1889. GRABER, V. *Vergleichende Studien über die Embryologie der Insekten und insbesondere der Musciden*. Denkschr. Acad. d. Wiss., Wien, Bd. 56.
1913. GUYÉNOT, E. *Etudes biologiques sur une mouche, Drosophila ampelophila, Löw. VII. Le déterminisme de la ponte*. C. R. Soc. Biol., vol. 74, p. 443-445.
1914. — *Action des rayons ultraviolets sur Drosophila ampelophila, Löw*. Bull. Sc. d. l. France et Belg., vol. 48, p. 160-169.
1917. — *Recherches expérimentales sur la vie aseptique et le développement d'un organisme en fonction du milieu*. Thèse (édit. Bull. Biol. Fr. et Belg.), Paris.
1928. GUYÉNOT, E. et NAVILLE, A. *Les chromosomes et la réduction chromatique chez Drosophila melanogaster*. La Cellule, vol. 39, p. 25-82.
1928. HANSON, F. B. et HEYS, F. M. *The effects of radium in producing lethal mutations in Drosophila*. Science, N. S., t. 68, p. 115-116.
1911. HASPER, M. *Zur Entwicklung der Geschlechtsorgane von Chironomus*. Zool. Jahrb., Bd. 31, p. 543-612.

1908. HEGNER, R. W. *Effects of removing the germ cells determinants from the eggs of some Chrysomelid beetles*. Preliminary report. Biol. Bull., T. 16, p. 19-26.
1909. — *The origin and early history of the germ cells of some Chrysomelid beetles*. Journ. Morph., T. 20, p. 231-296.
- 1911 a). — *Experiments with Chrysomelid beetles. Part. III: The effects of killing parts of the eggs of Leptinotarsa decemlineata*. Biol. Bull., T. 20, p. 237-251.
- 1911 b). — *The germ cells determinants of the eggs of Chrysomelid beetles*. Science, N. S., Vol. 33.
- 1911 c). — *Germ cell determinants and their significance*. Amer. Nat., T. 45.
1892. HEYMONS, R. *Die Entwicklung der weiblichen Geschlechtsorgane von Phyllodromia germanica L.* Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 53.
1893. — *Ueber die Entwicklung der Geschlechtszellen bei den Insekten*. Sitz. ber. Ges. Naturf. Freunde, Berlin, Nr. 10.
1895. — *Die Embryonalentwicklung der Dermapteren*. Jena.
1909. HIRSCHLER, J. *Die Embryonalentwicklung von Donacia crassipes L.* Ztschr. wiss. Zool., Bd. 92, p. 627-744.
1923. HUETTNER, A. *The origin of the germ cells in Drosophila melanogaster*. Journ. of Morph., T. 37.
1908. KAHLE, W. *Paedogenese der Cecidomyiden*. Zoologica, 1908, p. 1.
1904. KELLOG, V. L. *Influence of the primary reproductive organs on the secondary sexual characters*. Journ. of exp. Zoöl., T. 1, p. 601-605.
1911. KOPEC, St. *Untersuchungen über Kastration und Transplantation bei Schmetterlingen*. Arch. Entw. Mech., Bd. 33.
1913. — *Nochmals über die Unabhängigkeit der Ausbildung sekundärer Geschlechtscharaktere von den Gonaden bei Lepidopteren*. Zool. Anz., Bd. 43.
1886. KORSCHULT, E. *Ueber die Entstehung und Bedeutung der verschiedenen Zellelemente des Insektenovariums*. Ztschr. f. wiss. Zool., Bd. 43.
1886. KOWALEVSKY, A. *Zur embryonalen Entwicklung der Musciden*. Biol. Zentralbl., Bd. 6.
1910. LA BAUME, W. *Ueber den Zusammenhang primärer und sekundärer Geschlechtsmerkmale bei den Schmetterlingen und den übrigen Gliedertieren*. Biol. Zentralbl., Bd. 30, p. 72-81.
1911. LOEB, J. et BANKROFT, F. W. *Some experiments in the production of mutants in Drosophila*. Science, N. S., T. 33, p. 781-783.
1907. MEISENHEIMER, J. *Ergebnisse einiger Versuchsreihen über Exstirpation und Transplantation der Geschlechtsdrüsen bei Schmetterlingen*. Zool. Anz., Bd. 32.

1908. — *Ueber den Zusammenhang von Geschlechtsdrüsen und sekundären Geschlechtsmerkmalen bei den Arthropoden*. Verh. Deutsch. Zool. Ges., 18, Stuttgart, p. 84-96.
1909. — *Experimentelle Studien zu Soma- und Geschlechtsdifferenzierung*. Jena.
1916. MORGAN, T. H. et BRIDGES, C. B. *Sex-linked inheritance in Drosophila*. Public. Carnegie Instit., Washington.
1919. MORGAN, BRIDGES, STURTEVANT. *Contributions to the genetics of Drosophila melanogaster*. Ibid.
1923. MORGAN and BRIDGES. *The third-chromosome group of mutant characters of Drosophila melanogaster*. Ibid.
1927. MÜLLER, H. J. *Artificial transmutation of the gene*. Science, T. 66, p. 84-87.
1927. — *The problem of genetic modification*. Verh. V. intern. Kongr. Vererb. Wiss., Berlin, I, p. 234-260.
1901. NOACK, W. *Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Musciden*. Ztschr. wiss. Zool., Bd. 70.
1920. NONIDEZ, J. F. *Internal Phenomena of reproduction in Drosophila*. Biol. Bull., T. 39.
1899. OUDEMANS, J. Th. *Falter aus kastrierten Raupen, wie sie aussehen und wie sie sich benehmen*. Zool. Jahrb. Abt. f. Syst., Bd. 12, p. 71.
1927. PAULI, M. E. *Die Entwicklung geschnürter und zentrifugierter Eier von Calliphora vomitoria und Musca domestica*. Ztschr. wiss. Zool., Bd. 129, p. 483-540.
1912. PHILIPTSCHENKO, J. *Beiträge zur Kenntnis der Apterygoten. III. Die Embryonalentwicklung von Isotoma cinerea*. Ztschr. wiss. Zool., Bd. 103.
1915. PRELL, H. *Ueber die Beziehungen zwischen primären und sekundären Sexualmerkmalen bei Schmetterlingen*. Zool. Jahrb., Bd. 35.
1909. REGEN, J. *Kastration und ihre Folgeerscheinungen bei Gryllus campestris*. Zool. Anz., Bd. 24.
1925. REITH, F. *Die Entwicklung des Musca-Eies nach Ausschaltung verschiedener Keimbereiche*. Ztschr. wiss. Zool., Bd. 126, p. 181-238.
1927. ROSTAND, J. *Demi-larves de mouches obtenues par ligature des œufs*. Bull. Soc. entomol. France, 1^{re} note, p. 163; 2^{me} note, p. 215.
1924. RUPPERT, W. *Empfindlichkeitsänderungen des Ascariseies auf verschiedenen Stadien der Entwicklung gegenüber der Einwirkung ultravioletter Strahlen*. Ztschr. wiss. Zool., Bd. 123.

1923. SCHLEIP, W. *Die Wirkung des ultravioletten Lichtes auf die morphologischen Bestandteile des Ascaris-Eies*. Arch. exper. Zellforsch., Bd. 17, S. 289-367.
1929. ——— *Die Determination der Primitiventwicklung*. Leipzig.
1925. SEIDE, J. *Zur Kenntnis der biologischen Strahlenwirkung*. Ztschr. wiss. Zool., Bd. 124.
1925. ——— *Biologische Untersuchungen zur Frage der Strahlenwirkung*. Deutsche mediz. Wochenschr., Nr. 29.
1924. SEIDEL, F. *Die Geschlechtsorgane in der embryonalen Entwicklung von Pyrrhocoris apterus*. Ztschr. f. Morphol. und Oekol., Bd. 1.
- 1926-29. ——— *Die Determinierung der Keimanlage bei Insekten*. I. Biol. Zentralbl., p. 321-343 (1926), Bd. 46; II. Ibid., p. 230-251 (1928), Bd. 48; III. Ibid., p. 577-607 (1929), Bd. 49.
1929. ——— *Untersuchungen über das Bildungsprinzip der Keimanlage im Ei der Libelle Platynemesis pennipes I.-V*. Arch. f. Entw. Mech., Bd. 119.
1909. STEVENS, N. M. *The effects of ultra-violet light upon the developing eggs of Ascaris megalocephala*. Arch. Entw. Mech., Bd. 27.
1914. STRINDBERG, H. *Zur Kenntnis der Hymenopterenentwicklung, Vespa vulgaris u.s.w.* Ztschr. wiss. Zool., Bd. 112, p. 1-47.
1906. TOWER, W. L. *An investigation of evolution in Chrysomelid beetles of the genus Leptinotarsa*. Carnegie Instit. Public., No. 48, p. 1-320.
1920. VERHEIN, A. *Die Eibildung der Musciden*. Zool. Jahrb. (Abt. f. Anat.), Bd. 42.
1863. WEISMANN, A. *Die Entwicklung der Dipteren im Ei*. Ztschr. wiss. Zool., Bd. 13.
1864. ——— *Die nachembryonale Entwicklung der Musciden*. Ibid., Bd. 14.
-